

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

THÈSE PRÉSENTÉE À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DU DOCTORAT EN BIOPHYSIQUE

PAR
DENIS CHARLEBOIS

POTENTIEL ET LIMITATIONS DE LA SPECTROSCOPIE PHOTOACOUSTIQUE
POUR L'ÉTUDE DES EFFETS DE L'OZONE, DU BIOXYDE DE SOUFRE ET DE
L'ION SULFITE SUR L'ACTIVITÉ PHOTOSYNTHÉTIQUE DES PLANTES

AOÛT 1994

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

À la mémoire de Charles Daigle
(13/05/75 - 11/09/91), et
à Annette et Arsène Charlebois

*"Les forêts précèdent les peuples,
les déserts les suivent."*

CHATEAUBRIAND

RÉSUMÉ

Nous avons évalué le potentiel et les limitations de la spectroscopie photoacoustique (SPA) pour l'étude des effets de l'ozone (O_3) et du bioxyde de soufre (SO_2) sur l'activité photosynthétique de l'érable à sucre (*Acer saccharum* Marsh.). Nos résultats indiquent une grande résistance de cette espèce à ces deux gaz. Les semis (3 mois) ont cependant démontré une sensibilité supérieure à celle des sauvageons (5 à 7 ans). La grande variabilité des paramètres photoacoustiques (PA) que nous avons observée ne nous permet pas d'établir précisément le seuil de sensibilité de l'érable à sucre à ces polluants atmosphériques. Notre incapacité à démontrer une inhibition significative de l'activité photosynthétique d'érables à sucre exposés pendant 3 mois à 3 fois la concentration ambiante d'ozone ou présentant des symptômes évidents de dépérissement nous oblige à renoncer à l'utilisation de la SPA pour le diagnostic précoce du dépérissement.

La SPA s'est révélée plus utile pour l'étude des effets de l'ion sulfite (SO_3^{2-}) sur l'activité photosynthétique du pois (*Pisum sativum* L.), une plante sensible. L'inhibition causée par cet ion est dépendante de sa concentration et de la présence de lumière. À l'obscurité, son action semble se manifester sur la photophosphorylation et/ou sur le transport cyclique d'électrons autour du photosystème I (PS I). La réduction comparable du dégagement d'oxygène et de l'emmagasinement d'énergie, observée en présence de lumière, indique que le photosystème II (PS II) serait affecté par les ions sulfite.

L'absence de corrélation entre les composantes (thermique, d'oxygène et d'emmagasinement d'énergie) du signal PA et divers paramètres physiologiques (poids sec, poids frais, contenu pigmentaire) témoigne de la complexité de ce signal dans les feuilles. Les propriétés optiques particulières des feuilles, fort différentes de celles prévues dans les modèles théoriques de la SPA, ne permettent pas l'analyse adéquate des résultats. La complexité de la composante d'oxygène constitue une autre limitation à l'application de la technique en écophysiologie. Une réévaluation des théories PA actuelles semble donc nécessaire si l'on désire accéder à une meilleure compréhension du signal et des informations dont il est porteur. Les caractéristiques morphologiques et fonctionnelles de la feuilles devront alors être considérées.

REMERCIEMENTS

J'aimerais remercier mon directeur de thèse, le Dr Roger M. Leblanc, pour son assistance financière, ses bons conseils et sa patience. Son ardeur au travail et son enthousiasme ont été très stimulants.

Merci aux membres du jury, Dr Robert Carpentier, Dre Lucie Maillette, Dr Yves Maufette et Dr Gilles Robitaille, pour leurs commentaires constructifs qui auront permis d'améliorer la forme et le fond de cette thèse.

Des remerciements particuliers au Dr Konka Veeranjanyulu pour sa participation active dans l'élaboration, l'exécution et l'analyse des expériences sur le SO₂ et l'ion sulfite. Je lui suis redevable de son temps, de ses bons conseils, de son amitié et de si nombreux bons repas.

Dr Marc Charland, par un subtil mélange d'humour et de critiques constructives, m'aura permis de prendre le recul nécessaire pour mener à terme ce travail. Je profite de cette occasion pour lui exprimer ma reconnaissance et je souhaite que notre amitié dure longtemps.

Mes excuses et ma plus tendre affection à ma conjointe, Odette Parent, pour lui avoir fait subir une aussi longue séparation. Elle a été ma source de motivation tout au long de ces années. La remercier en quelques lignes serait nettement insuffisant. Je lui propose donc de m'accorder le reste de nos jours pour le faire.

Merci également à monsieur Stéphane Daigle du Jardin Botanique de Montréal pour l'analyse statistique de nombreux résultats. J'aimerais témoigner ma gratitude à l'ensemble des membres du Centre de recherche en photobiophysique. Leur aide sur le plan professionnel et personnel a agrémente mon séjour dans cet établissement.

Cette thèse n'aurait pu avoir sa forme actuelle sans l'aide de madame Aline Charlebois et monsieur Léo-Paul Jémus à qui je dis "Ce n'est que partie remise". Pour terminer, un merci bien spécial à mes parents. Les efforts déployés pour réaliser ce travail m'apparaissent insignifiants devant leurs accomplissements. À eux et à monsieur Charles Daigle, je dédie humblement cette thèse.

TABLE DES MATIÈRES

	page
RÉSUMÉ	iii
REMERCIEMENTS	iv
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES TABLEAUX	x
LISTE DES FIGURES	xii
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xiv
CHAPITRES	
I INTRODUCTION	1
A) Problématique	1
B) Technique d'analyse utilisée	2
C) Objectifs	3
II LA FEUILLE: STRUCTURE ET FONCTION	5
A) Notions de morphologie	5
B) Propriétés optiques	9
C) Relations structure - fonction	13
D) Organisation cellulaire	14
E) Activité photosynthétique des feuilles d'érable à sucre	20
III POLLUTION ATMOSPHÉRIQUE ET DÉPÉRISSEMENT FORESTIER	23
A) Les polluants gazeux	23
1) Effets sur les plantes: généralités	23
a) Variations intra- et inter-spécifiques	24
b) Facteurs environnementaux et expression des symptômes	25
c) Définitions	27
2) L'ozone	29
a) Sources, chimie et transport	29
b) Effets sur l'appareil photosynthétique: structure et fonction	34
c) Effets sur la physiologie de la plante	37

d)	Effets sur la morphologie de la plante	40
e)	Généralités	41
3)	Le bioxyde de soufre	42
a)	Sources, chimie et transport	43
b)	Effets sur l'appareil photosynthétique: structure et fonction	48
c)	Effets sur la physiologie de la plante	53
d)	Effets sur la morphologie de la plante	54
e)	Généralités	54
4)	Action combinée	55
B)	Le dépérissement forestier	56
1)	Historique	56
2)	Importance	58
3)	Symptômes	61
4)	Causes probables	61
IV	SPECTROSCOPIE PHOTOACOUSTIQUE	65
A)	Généralités	65
1)	Rappel historique	65
2)	Principe de base	66
3)	Cas des organismes photosynthétiques	68
B)	Aspect théorique	69
1)	Théorie de Rosencwaig et Gersho	72
2)	Cas des organismes photosynthétiques	80
C)	Applications	88
D)	Spectres et profils de profondeur	90
E)	Bilan thermique de la feuille	93
V	MATÉRIEL ET MÉTHODES	95
A)	Matériel végétal	95
1)	Érable à sucre	95
a)	Semis	96
b)	Sauvageons	96
c)	Échantillons sur le terrain	97
2)	Pois	98

B)	Fumigations	99
1)	En chambre de fumigation	99
2)	En chambres d'exclusion	100
C)	Traitement au sulfite de sodium (Na_2SO_3)	101
D)	Spectroscopie photoacoustique	105
1)	Description de l'appareil	105
a)	Source lumineuse	107
b)	Cellule ou enceinte photoacoustique	108
c)	Dispositif d'acquisition et de traitement du signal	109
2)	Conditions expérimentales	111
E)	Détermination de l'ouverture des stomates	114
F)	Analyses statistiques	116
VI	RÉSULTATS	118
A)	Paramètres utilisés lors des mesures en spectroscopie photoacoustique	119
B)	Effets de l'ozone sur l'activité photosynthétique de l'érable à sucre	123
1)	À court terme	124
a)	Semis	124
b)	Sauvageons	126
c)	Effet du temps écoulé entre le traitement et les mesures	127
d)	Effet de l'intensité lumineuse lors de la fumigation	131
2)	À long terme	132
C)	Effets du bioxyde de soufre sur l'activité photosynthétique de l'érable à sucré	136
D)	Effets de l'ion sulfite sur l'activité photosynthétique du pois	139
E)	Détermination de l'ouverture des stomates	141
VII	DISCUSSION	145
A)	Effets de l'ozone	145
1)	À court terme	145
2)	À long terme	151
a)	Chambres d'exclusion	151
b)	Arbres matures	152

B)	Effets du bioxyde de soufre et de l'ion sulfite	153
1)	Le bioxyde de soufre	153
2)	L'ion sulfite	156
C)	Détermination de l'ouverture de stomates	161
D)	Importance des stomates	163
E)	Potentiel et limitations des chambres de croissance et d'exclusion	165
F)	Potentiel et limitations de la spectroscopie photoacoustique	168
1)	Imputables à la technique	169
a)	Plantes contrôles	169
b)	Évaluation de la spectroscopie photoacoustique	170
2)	Imputables au matériel utilisé	176
G)	Discussion générale	189
VIII	CONCLUSION	195
	RÉFÉRENCES	200
	ANNEXES	
I	CHAMBRE DE FUMIGATION	241
A)	Problématique	241
B)	Matériel et méthodes	241
C)	Résultats et Discussion	244
D)	Conclusion	252
II	PRODUCTION DE SEMIS D'ÉRABLE À SUCRE À PARTIR DE GRAINES	253
A)	Problématique	253
B)	Matériel et méthodes	253
C)	Résultats	260
D)	Discussion	260
E)	Conclusion	262
III	RELATION ENTRE LE SIGNAL PHOTOACOUSTIQUE ET CERTAINS PARAMÈTRES PHYSIOLOGIQUES	263
A)	Objectifs	263

B)	Matériel et méthodes	265
1)	Matériel végétal	265
2)	Mesures en spectroscopie photoacoustique	266
3)	Évaluation des paramètres physiologiques	267
C)	Résultats	269
D)	Discussion	271
E)	Conclusion	275

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	page
1. Sommaire des effets de l'ozone sur les plantes: biochimie	36
2. Sommaire des effets de l'ozone sur les plantes: physiologie et morphologie . . .	38
3. Sommaire des effets du bioxyde de soufre sur les plantes	51
4. Sommaire des causes associées au dépérissement de l'érable à sucre en Amérique du Nord entre 1947 et 1985	57
5. Importance du dépérissement des érablières au Québec en 1983	59
6. Sommaire des revues sur les applications de la spectroscopie photoacoustique dans le domaine de la biologie végétale	89
7. Performances des chambres d'exclusion: concentrations journalières d'ozone . .	119
8. Variation des paramètres PA de semis d'érable à sucre suite à une fumigation à l'ozone de courte durée (4 h): effet de la concentration	125
9. Variation des paramètres PA de sauvageons d'érable à sucre suite à une fumigation à l'ozone de courte durée (4 h): effet de la concentration	128
10. Variation des paramètres PA de semis d'érable à sucre suite à une fumigation de 1000 ppb d'ozone de courte durée (4 h): effet du temps écoulé entre le traitement et les mesures	129
11. Variation des paramètres PA de semis d'érable à sucre suite à une fumigation de 1000 ppb d'ozone de courte (4 h) ou de moyenne (8 h) durée	130
12. Variation des paramètres PA de semis d'érable à sucre suite à une fumigation de 1000 ppb d'ozone de courte durée (4 h): effet de l'intensité lumineuse	132
13. Variation temporelle des paramètres PA de sauvageons d'érable à sucre suite à une fumigation à l'ozone de longue durée (1 saison): effet de la concentra- tion	134
14. Variation des paramètres PA d'érables à sucre matures appartenant à des classes différentes de dépérissement	137
15. Variation de l'EEP et d' A_{O_2} normalisée d'érables à sucre suite à une fumigation au bioxyde de soufre de courte durée (4 h): effet de la concentration	138
16. Effet du sulfite de sodium (Na_2SO_3) sur le ratio de la fluorescence variable sur la fluorescence maximale (F_v/F_m) des disques de feuilles de pois	143

Tableau

17. Effet du sulfite de sodium (Na_2SO_3) sur l'EEP et sur l' A_{O_2} normalisée des disques de feuilles de pois: influence de l'intensité lumineuse :	144
18. Effet de l'ozone sur l'érable à sucre: induction de dommages foliaires	148
19. Quelques caractéristiques morphologiques de feuilles exposées à différentes conditions d'éclairement	183
20. Activité photosynthétique et respiration de feuilles en fonction de l'intensité lumineuse	184
21. Adaptations caractéristiques observées chez les feuilles de soleil ou produites sous une haute intensité lumineuse	186
22. Coefficient de corrélation des droites de régression reliant le taux d'échange de CO_2 à la surface foliaire spécifique	193
23. Répartition de la lumière à différentes positions à l'intérieur de la chambre de fumigation exprimée en pourcentage de l'intensité moyenne: une seule lampe	247
24. Répartition de la lumière à différentes positions à l'intérieur de la chambre de fumigation exprimée en pourcentage de l'intensité moyenne: deux lampes	249
25. Valeur des intensités lumineuses moyennes à diverses hauteurs à l'intérieur de la chambre fumigation en fonction du nombre de lampes	251
26. Composition de la solution d'arrosage	258
27. Provenance des composantes de la solution d'arrosage	259
28. Valeurs moyennes des paramètres physiologiques mesurés chez trois espèces . .	270
29. Paramètres photoacoustiques et contenu pigmentaire des disques de feuilles d'un sauvageon d'érable à sucre	271

LISTE DES FIGURES

Figure	page
1. Variations de l'organisation morphologique de la feuille	6
2. Représentation schématique de l'organisation morphologique de la feuille de plante à photosynthèse du type C ₃	7
3. La cellule végétale	15
4. Le chloroplaste	17
5. La chaîne de transport d'électrons	19
6. Activité photosynthétique et résistance stomatique de l'érable à sucre en fonction de l'intensité lumineuse	21
7. Concentration ambiante moyenne d'ozone sur le site expérimental de Tingwick au cours de l'été 1989	32
8. Abondance du bioxyde d'azote, de l'ozone et du bioxyde de soufre dans la région de la Beauce en 1987 (moyennes mensuelles)	45
9. Abondance du bioxyde d'azote, de l'ozone et du bioxyde de soufre dans la région de la Beauce en 1988 (moyennes mensuelles)	46
10. Schéma simplifié de l'absorption et de la distribution des polluants gazeux dans une feuille type: cas du bioxyde de soufre	47
11. Mécanismes de désexcitation d'une molécule de chlorophylle: cas général	67
12. Mécanismes de désexcitation d'une molécule de chlorophylle: mécanismes considérés en spectroscopie photoacoustique	70
13. La cellule photoacoustique: aspect théorique	73
14. Les 6 cas limites dérivés de la théorie de Rosencwaig & Gersho	79
15. Le signal photoacoustique: représentation scalaire	84
16. Le signal photoacoustique: représentation vectorielle	86
17. Concentration moyenne d'ozone à l'intérieur des chambres d'exclusion recevant de l'air filtré ([O ₃] ≈ 0 ppb) au cours de l'été 1989	102
18. Concentration moyenne d'ozone à l'intérieur des chambres d'exclusion recevant de l'air ambiant ([O ₃] ≈ ambiante) au cours de l'été 1989	103
19. Concentration moyenne d'ozone à l'intérieur des chambres d'exclusion recevant de l'air enrichi ([O ₃] ≈ 3 x ambiante) au cours de l'été 1989	104
20. Représentation schématique du spectromètre photoacoustique	106

Figure

21.	Effet de l'intensité lumineuse sur le signal photoacoustique de feuilles d'érable à sucre (sauvageons)	120
22.	Effet de la fréquence de modulation sur l'emmagasinage d'énergie photosynthétique de feuilles d'érable à sucre (sauvageons)	122
23.	Effet de la concentration en sulfite de sodium (Na_2SO_3) sur l'EEP et l' A_{O_2} normalisée des disques de feuilles de pois	140
24.	Courbes d'induction de fluorescence des disques de feuilles de pois: effet d'un traitement avec 20 mM de sulfite de sodium (Na_2SO_3)	142
25.	Morphologie des cellules de garde chez deux espèces d'érable	162
26.	Relation entre T^m et le poids frais de différents disques de feuilles de peupliers à grandes dents	272

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A	groupe d'accepteurs d'électrons du PS I (comprend A_0 et A_1)
a_ϵ	coefficient de diffusion thermique [m^{-1}]
A_{O_2}	amplitude de la composante du signal PA reliée aux échanges d'oxygène
A_{T^m}	amplitude maximale de la composante du signal PA reliée aux émissions non-radiatives
ADP	adénosine diphosphate
ATP	adénosine triphosphate
C	capacité calorifique, chaleur spécifique (échantillon, fenêtre, gaz ou support) [$J \cdot kg^{-1} \cdot K^{-1}$]
C_c	concentration molaire [M]
CCL	complexe pigments-protéines collecteur de lumière
CDO	complexe de dégagement d'oxygène du PS II
chl <i>a</i>	chlorophylle <i>a</i>
chl <i>b</i>	chlorophylle <i>b</i>
CO ₂	bioxyde de carbone
cyt	cytochrome (dans le cas du cyt b_{559} et du cyt b_6-f)
e_{cnr}	efficacité de la conversion non-radiative (en SPA)
e_n	efficacité du transfert thermique de l'échantillon au gaz de couplage (en SPA)
$E_{\lambda, I}$	énergie quantique absorbée par l'échantillon (en SPA)
EEP	emmagasinage d'énergie photosynthétique
<i>f</i>	fréquence de modulation [Hz]
FD(H ₂)	ferrédoxine (forme réduite)
FP(H ₂)	flavo-protéine (forme réduite)
h	constante de Planck ($6.63 \times 10^{-34} J \cdot s$)
H ⁺	ion hydrogène (proton)
H ₂ O ₂	peroxyde d'hydrogène
H ₂ S	sulfide d'hydrogène
I	fraction de lumière absorbée
<i>k</i>	conductivité thermique [$J \cdot s^{-1} \cdot m^{-1} \cdot K^{-1}$]
k_i	constante instrumentale
K	potassium disponible sous forme K ₂ O dans un engrais
<i>l</i>	longueur (échantillon, fenêtre, gaz ou support)
n	indice de réfraction
N	nombre d'Avogadro (6.032×10^{23})
NADP(H)	nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (forme réduite)
NPA	nitrate de peroxyacétyle (PAN peroxyacetyl nitrate)
NO _x	oxydes d'azote
O ₂	oxygène
O ₃	ozone
P	phosphore disponible sous forme P ₂ O ₅ dans un engrais
P680	centre réactionnel du PS II

P700	centre réactionnel du PS I
PA	photoacoustique
PC	plastocyanine
Phéo	phéophytine
P _i	phosphate inorganique (PO ₄ ³⁻)
ppb	partie par milliard (10 ⁻⁹ , 1 ppm ou partie par million = 1000 ppb)
PQ	plastoquinone
PQH ₂	plastoquinol (forme réduite de PQ)
PS I	photosystème I
PS II	photosystème II
Q	amplitude du signal photoacoustique
Q _a	quinone, accepteur du PS II
Q _b	quinone, accepteur du PS II
Q _m	signal PA en présence du faisceau modulé seulement
Q _{m(0°)}	composante en phase de Q _m
Q _{m(90°)}	composante en quadrature de Q _m
Q _{ms}	signal PA en présence des faisceaux modulé et saturant
Q _{ms(0°)}	composante en phase de Q _{ms}
Q _{ms(90°)}	composante en quadrature de Q _{ms}
RAP	radiation active photosynthétiquement (400 nm ≤ λ ≤ 700 nm)
S/B	rapport signal/bruit
SO ₂	bioxyde de soufre (anhydride sulfureux)
SO ₄ ²⁻	ion sulfate
SO ₃ ²⁻	ion sulfite
SO _x	oxyde de soufre
SPA	spectroscopie photoacoustique
t	temps [s]
T	température [K]
UV	radiations ultra-violettes (200 nm ≤ λ ≤ 400 nm)
x	position [m]
X	accepteur d'électrons du PS I
Z	donneur d'électrons du PS II (thyrosine)
α	diffusivité thermique (échantillon, fenêtre, gaz ou support)[m ² ·s ⁻¹]
β	coefficient d'absorption optique [m ⁻¹]
ΔE _{pi}	changement d'énergie interne par mole de produit formé
ε	absorptivité molaire [M ⁻¹ ·m ⁻¹]
λ	longueur d'onde [m]
μ _β	longueur d'absorption optique [m]
μ _ε	longueur de diffusion thermique de l'échantillon [m](également μ _ω)
ρ	masse volumique ou densité (échantillon, fenêtre, gaz ou support)[kg·m ⁻³]
ν	fréquence [Hz]
φ	rendement quantique [E·s ⁻¹ ·m ⁻²]
ω	fréquence angulaire de modulation [rad·s ⁻¹]

CHAPITRE I

INTRODUCTION

A) Problématique

La présence dans l'atmosphère de polluants gazeux tels que les oxydes d'azote (NO_x), le nitrate de peroxyacétyle (NPA), l'ozone et le bioxyde de soufre, et des dépôts qui leurs sont associés est relié à un grand nombre de perturbations de notre environnement. Parmi celles-ci, mentionnons l'acidification des précipitations de même que certaines modifications morphologiques et physiologiques des plantes. L'ozone et le bioxyde de soufre constituent, directement ou indirectement, les principaux polluants atmosphériques responsables des effets observés. L'étude de leur potentiel phytotoxique revêt donc une grande importance.

Comme l'ont souligné Hendershot & Jones (1989), bien que les polluants gazeux et les précipitations acides aient fort probablement augmenté les perturbations auxquelles les érablières du Québec sont soumises, les recherches effectuées jusqu'à présent ne permettent pas de prouver qu'ils en sont la cause. Cette situation tient d'une part de la complexité du phénomène et, d'autre part, de l'inadéquation des techniques utilisées jusqu'à présent.

Deux points tirés de l'étude de Hibben (1969) méritent d'être repris. Premièrement, cet auteur a proposé que l'ozone serait un facteur parmi une multitude à pouvoir agir sur l'érable à sucre et provoquer son dépérissement. Deuxièmement, il a également su faire ressortir la faiblesse de l'observation visuelle comme méthode d'évaluation de l'effet de l'ozone et a

proposé d'attendre les résultats d'études sur l'effet des doses subliminaires sur la photosynthèse, la respiration, l'activité enzymatique et finalement la croissance. Ce dernier point rejoint les propos d'Innes (1988) qui a souligné l'inadéquation des observations visuelles pour l'évaluation du dépérissement forestier. Cependant, d'autres facteurs, telles que la croissance et l'activité photosynthétique, étant plus sensibles à la présence des polluants, semblent mieux adaptés pour en diagnostiquer les effets (Innes, 1988).

De nombreux mécanismes ont été proposés afin d'expliquer le mode d'action de divers polluants atmosphériques sur l'activité photosynthétique des plantes. En dépit des efforts déployés afin de déterminer ces mécanismes, divers aspects restent à éclaircir. Ainsi, plusieurs imprécisions persistent sur la nature exacte des sites et mécanismes d'action de l'ion sulfite, un produit de la réaction du SO_2 et de l'eau.

B) Technique d'analyse utilisée

Depuis la fin des années 70, la spectroscopie photoacoustique connaît un regain de popularité. Ce point tient de la simplicité de cette technique et des informations qu'elle peut fournir sur l'activité photosynthétique. De façon simplifiée, le principe de base de la SPA se résume ainsi: un disque de feuille (2 à 3 cm de diamètre) est enfermé dans une enceinte hermétique munie d'une fenêtre et d'un microphone. Le disque est éclairé périodiquement au moyen d'un faisceau monochromatique à une longueur d'onde capable de produire une activité photosynthétique. Une fraction de l'énergie lumineuse modulée absorbée par le disque de feuille sera utilisée pour activer la photosynthèse, le reste sera restitué sous forme de chaleur qui diffusera jusqu'à la surface du disque pour y engendrer une dilatation périodique du gaz présent dans l'enceinte. Si la fréquence de modulation du faisceau d'analyse se situe dans la

gamme des fréquences perceptibles par le microphone, un son sera détecté. Amplifié et extrait du bruit environnant à l'aide d'un amplificateur à verrouillage de phase, ce son constitue le signal PA. L'activité photosynthétique est déduite en comparant ce son avec celui obtenu avec le même disque de feuille en présence du faisceau d'analyse et d'un faisceau continu de lumière blanche. Une description détaillée de la SPA est présentée chapitre IV.

La spectroscopie photoacoustique permet d'obtenir des informations sur les mécanismes primaires de la photosynthèse. Ces informations devraient nous permettre de détecter les tout premiers effets des polluants étudiés puisque des modifications de l'activité photosynthétique précèdent, le plus souvent, les modifications morphologiques macroscopiques. Si notre présomption s'avère exacte, il nous sera possible de procéder à un diagnostic précoce (avant l'apparition de symptômes visibles) des effets de l'ozone et du bioxyde de soufre.

C) Objectifs

Étant donné: 1- le caractère phytotoxique de l'ozone et du bioxyde de soufre; 2- leur implication possible dans le dépérissement forestier; 3- la sévérité avec laquelle le dépérissement se manifeste chez l'érable à sucre; 4- la confusion dans la littérature au sujet de la sensibilité à l'ozone de cette espèce; 5- l'inadéquation des techniques actuelles dans le diagnostic du dépérissement; 6- la réponse aux variations des facteurs environnementaux de l'activité photosynthétique; 7- le potentiel de la SPA pour étudier les mécanismes de la photosynthèse, nous avons entrepris une série d'expériences visant, en partie, à vérifier l'aptitude de la SPA dans le diagnostic des effets de l'ozone et du bioxyde de soufre sur l'activité photosynthétique de l'érable à sucre.

Nous voulons par cette étude: 1- déterminer le seuil de sensibilité de l'érable à sucre à l'ozone et au bioxyde de soufre suite à une fumigation en laboratoire de courte durée (exposition aiguë); 2- déterminer les effets d'une exposition en chambre à ciel ouvert de longue durée (exposition chronique) à la concentration ambiante d'ozone ou trois fois supérieure à celle-ci; 3- étudier les mécanismes d'action de l'ion sulfite sur l'appareil photosynthétique; 4- vérifier si la spectroscopie photoacoustique permet de déceler des différences dans l'activité photosynthétique des feuilles d'arbres matures présentant un niveau de dépérissement différent (nul, modéré et élevé); finalement, 5- évaluer le potentiel et les limitations de la SPA dans l'établissement du diagnostic précoce de la pollution par l'ozone et/ou le bioxyde de soufre. À ce sujet, notons que la mise au point d'une technique de diagnostic précoce demeure l'objectif de plusieurs équipes de recherche (Laitat & Impens, 1985; Stegmann *et al.*, 1985; Baillon *et al.*, 1987; Strasser & Graf, 1987; Rock *et al.*, 1988; Chauhan, 1990) ce qui en témoigne l'importance. Bien qu'il aurait été intéressant d'effectuer l'ensemble des expériences sur l'érable à sucre, nous avons eu recours au pois lors de l'étude des mécanismes d'action de l'ion sulfite (point 3). Les avantages que comporte l'utilisation du pois ainsi que les raisons qui nous ont conduit à ce choix seront présentés dans les prochains chapitres.

Pour atteindre nos objectifs, nous avons conçu une chambre de fumigation capable de recevoir des semis ou des sauvageons d'une dizaine d'années. Les caractéristiques particulières ainsi que les performances de la chambre de fumigation sont présentés à l'annexe I. Cette chambre a permis d'effectuer des fumigations de contrôle avec de l'air dépourvu presque totalement de polluants. Un autre problème à résoudre était la préparation en quantité suffisante des semis d'érable à sucre. La dormance particulièrement profonde des graines de cette espèce a compliqué notre tâche. La mise au point d'une méthode satisfaisante de stratification et de germination des graines d'érable à sucre fait l'objet de l'annexe II.

CHAPITRE II

LA FEUILLE: STRUCTURE ET FONCTION

Afin de mieux comprendre les mécanismes d'absorption et d'action des polluants gazeux, mais également dans le but d'introduire certaines notions de base nécessaires à la compréhension de la génération du signal PA dans les feuilles, nous examinerons certaines particularités morphologiques et fonctionnelles de la feuille.

A) Notions de morphologie

L'absorption et la conversion de l'énergie lumineuse par les organismes photosynthétiques représentent des étapes cruciales pour l'équilibre énergétique de la planète. En dépit de l'abondance de l'énergie lumineuse, cette mise à profit des radiations solaires n'a lieu qu'au prix d'une certaine complexité structurale et fonctionnelle dont certaines caractéristiques communes peuvent être dégagées.

Chez les plantes supérieures, l'organisation morphologique des feuilles peut prendre plusieurs formes (figure 1). À titre d'exemples, mentionnons le limbe plat que l'on retrouve chez la grande majorité des espèces dont l'érable à sucre et le pois, la structure charnue que prennent les feuilles des plantes dites "grasses", les aiguilles des Gymnospermes et de nombreuses plantes de milieu sec. Considérons une forme courante à laquelle appartiennent les feuilles de l'érable à sucre et du pois (figure 2).

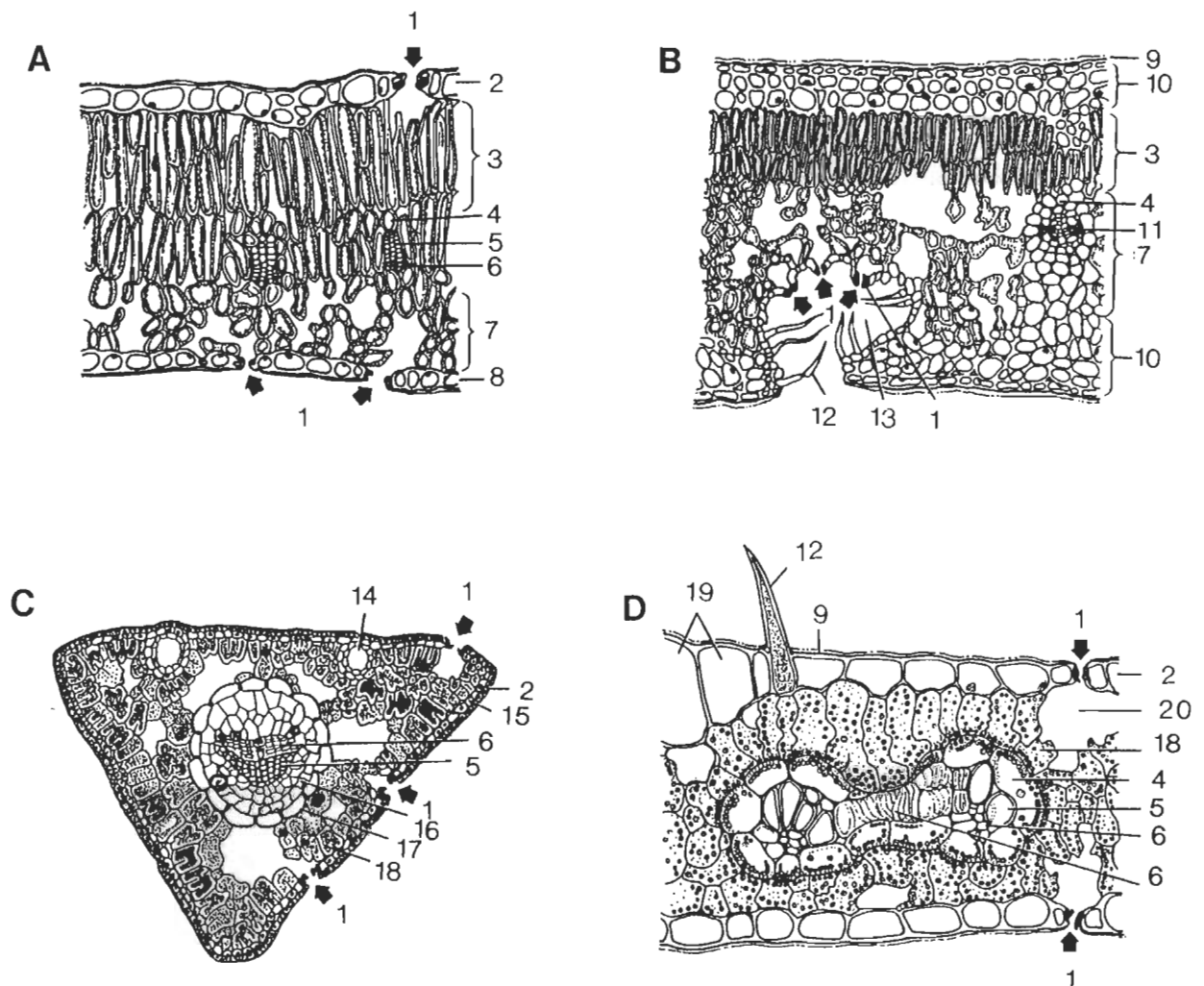


Figure 1. Variations de l'organisation morphologique de la feuille

A) Lilas (*Syringa* sp.)(C₃); B) Nérîum (*Nerium oleander* L.)(CAM)
C) Pin blanc (*Pinus strobus* L.)(C₃); D) Maïs (*Zea mays* L.)(C₄)

1- stomate(s); 2- épiderme supérieur; 3- parenchyme palissadique; 4- cellules périfasciculaires; 5- xylème; 6- phloème; 7- parenchyme lacuneux; 8- épiderme inférieur; 9- cuticule; 10- épiderme à assises multiples (stratifié); 11- faisceau vasculaire; 12- trichome(s); 13- crypte stomatique; 14- canal résinifère; 15- hypoderme; 16- tissu de transfusion; 17- endoderme (non-chlorophyllien); 18- chlorenchyme; 19- cellules bulbiformes; 20- chambre sous-stomatique. (D'après Salisbury & Ross, 1992).

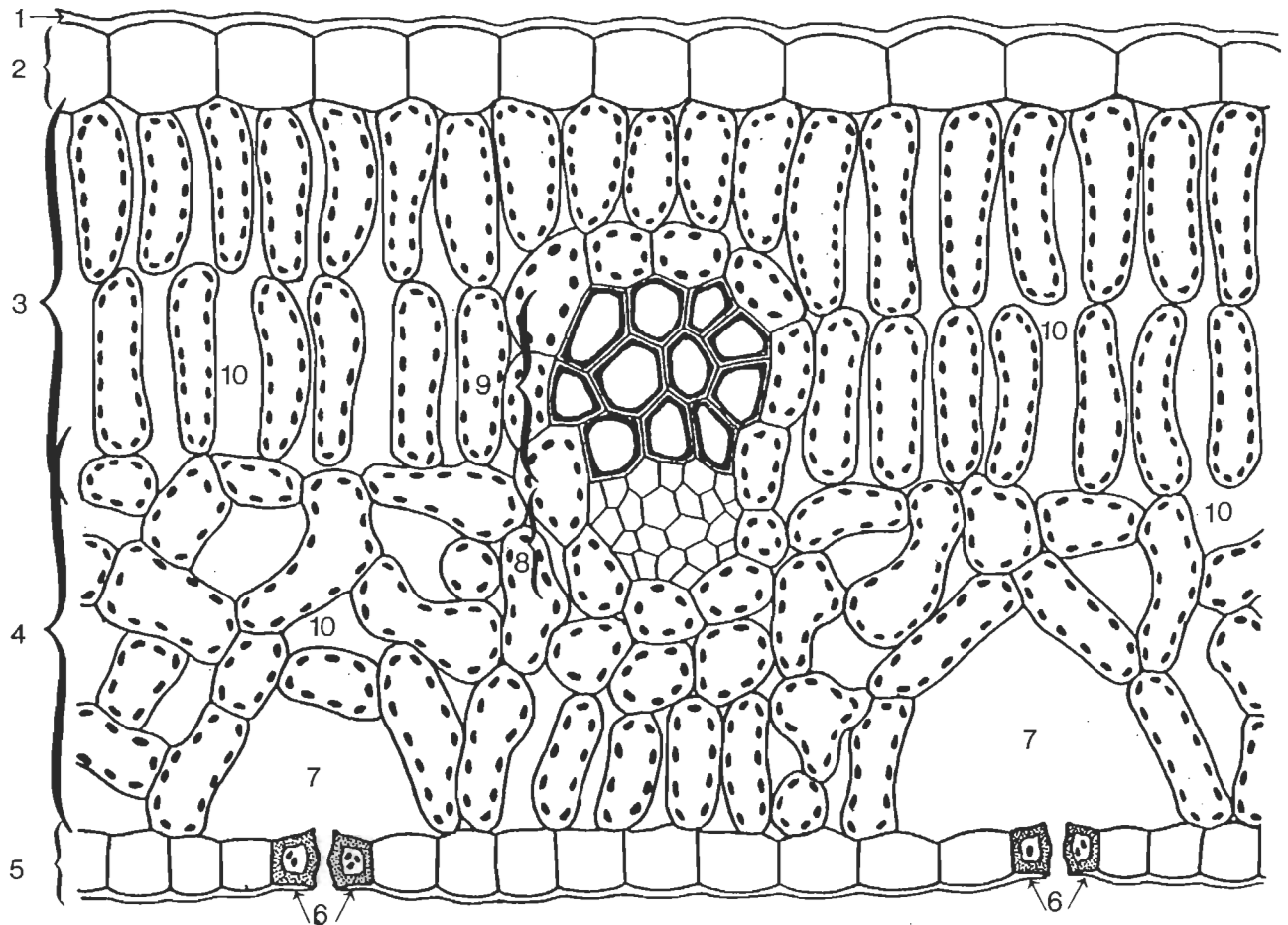


Figure 2. Représentation schématique de l'organisation morphologique d'une feuille de plante à photosynthèse du type C_3

1. cuticule (de composition variable, peut présenter des excroissances)
2. épiderme supérieur (peut contenir des stomates)
3. parenchyme palissadique (une ou plusieurs assises de cellules)
4. parenchyme lacuneux (cellules généralement hétéromorphes)
5. épiderme inférieur (cette exemple correspond au cas de l'érable à sucre)
6. cellules de gardes (seules cellules de l'épiderme contenant des chloroplastes)
7. chambre sous-stomatique
8. xylème
9. phloème
10. espaces intercellulaires (noter la différences entre les deux parenchymes)

La feuille peut atteindre des dimensions très variables, de quelques mm² à plus d'un m² de surface. Le thème d'organisation illustré à la figure 2, présente une multitude de variations qui témoignent des adaptations aux conditions environnementales.

L'organisation morphologique particulière d'une feuille consiste en un compromis entre l'utilisation optimale de la lumière, sans causer d'augmentation appréciable de sa température, et la nécessité de maintenir des échanges gazeux avec l'atmosphère environnante tout en minimisant les pertes d'eau par évapotranspiration. La dépendance de la feuille vis-à-vis de la lumière et du CO₂ atmosphérique se traduit par l'évolution d'une morphologie particulière qui optimise l'interception de la lumière¹, minimise l'échauffement et les pertes excessives d'eau² tout en permettant des échanges gazeux³ avec l'environnement.

La plupart des feuilles présentent une structure bifaciale dont la face supérieure⁴ diffère de la face inférieure. De plus, ces feuilles sont souvent hypostomatiques. Il arrive que l'épiderme présente des structures diverses (poils, glandes,...) qui réduisent les pertes d'eau par évapotranspiration de même que l'échauffement de la feuille, ou encore augmentent le pouvoir de diffusion et de réflexion de la lumière. Les feuilles du peuplier blanc (*Populus alba* L.) constituent un bon exemple. En effet, la surface inférieure de celles-ci présentent une pubescence blanche très abondante qui en augmenterait marginalement l'absorption lumineuse (Eller, 1977; Sharkey, 1979) et réduirait l'échauffement de la feuille (Sharkey, 1985).

-
- 1 L'augmentation de la surface et/ou du nombre de feuilles ainsi que leur orientation particulière permet d'augmenter l'interception de la lumière.
 - 2 Une réduction du rapport surface/volume permet de minimiser les pertes d'eau. Ce rapport est minimum dans le cas d'une sphère.
 - 3 La vitesse de diffusion des gaz (O₂ et CO₂) constitue un important facteur limitant.
 - 4 Les termes face ventrale ou face adaxiale désignent également la face supérieure d'une feuille. De façon similaire, les expressions face inférieure, face dorsale et face abaxiale sont synonymes.

Les feuilles bifaciale ont souvent une orientation perpendiculaire à la lumière incidente. À cela vient s'ajouter une organisation distincte des deux épidermes et des parenchymes sous-jacents qui confère à la feuille une organisation anatomique asymétrique selon le plan paradermique (figure 2).

Faisant face au soleil et sous l'épiderme supérieur, nous retrouvons le parenchyme palissadique. Les cellules y sont généralement cylindriques, disposées très près les unes des autres, sur une ou plusieurs assises avec leur axe principal perpendiculaire au plan de la feuille. Les espaces intercellulaires y occupent entre 5 et 20% du volume total du tissu (Woolley, 1971). Le parenchyme palissadique présente un nombre restreint d'interfaces cellule-air ce qui le distingue du tissu sous-jacent, le parenchyme lacuneux. Le parenchyme lacuneux a des cellules de forme irrégulière et sans orientation préférentielle qui forment un tissu lâche. La densité de chloroplastes y est, de ce fait, moins grande que dans le parenchyme palissadique. Les espaces intercellulaires y occupent entre 50 et 80% du volume total du tissu (Woolley, 1971). Il en résulte un nombre d'interfaces cellule-air plus élevé. Cette différence entre les deux types de parenchymes influence fortement leurs propriétés optiques. L'arrangement des cellules dans la feuille assure une distribution plus uniforme de la lumière en augmentant l'effet de crible et la dispersion lumineuse (Sharkey, 1985). Voyons de quelle façon l'organisation morphologique de la feuille affecte ses propriétés optiques.

B) Propriétés optiques

L'effet de crible ("sieve effect") constitue une manifestation importante des propriétés optiques de la feuille. Il fait référence à la distribution uniforme des pigments dans la feuille et aux conséquences qu'une telle distribution a sur l'absorption de la lumière. L'importance

de l'effet dépend de l'absorbance, ce qui signifie que dans la feuille l'effet sera plus important aux longueurs d'onde les plus fortement absorbées: le rouge et le bleu (Sharkey, 1985). Les propriétés optiques des tissus végétaux sont fortement dépendantes de la longueur d'onde de la lumière qui les frappe (Seyfried & Schäfer, 1983).

De façon générale, la lumière est présente dans le milieu naturel en quantité supérieure à celle nécessaire pour saturer la photosynthèse¹ de sorte que les cellules du parenchyme palissadique ne doivent pas nécessairement absorber toute l'énergie lumineuse qu'elles reçoivent pour fonctionner de façon optimale. À cet effet, les espaces entre les cellules du parenchyme palissadique forment des canaux qui fonctionnent comme des fibres optiques (Sharkey, 1985). Ces espaces permettent à une plus grande fraction de la lumière, en provenance de la face supérieure de la feuille, de passer au travers de cette (ou ces) assise cellulaire pour rejoindre le parenchyme lacuneux. La disposition des cellules, en plus de réduire la quantité de lumière que ces cellules absorbent et ainsi éviter une surexposition, serait optimale pour le passage de la lumière provenant de l'épiderme supérieur en direction du parenchyme lacuneux (Sharkey, 1985).

L'organisation du parenchyme lacuneux lui confère un excellent pouvoir de diffusion de la lumière ("scattering"). Cette diffusion se produit principalement à l'interface entre l'air, présent dans les espaces intercellulaires, et l'eau qui recouvre les cellules du chlorenchyme (Harnischfeger & Zenk, 1983).

Le pouvoir de diffusion du parenchyme lacuneux tient du fait que la lumière vient frapper la surface des cellules à différents angles, ce qui en augmente considérablement le parcours

1 Il faut cependant noter le cas de certaines plantes du type C₄ et CAM qui présentent un point de saturation lumineuse très élevé.

optique et, de ce fait, la probabilité d'absorption par les chloroplastes présents à faible densité dans ce tissu. Il en découle que la chlorophylle des chloroplastes du parenchyme lacuneux présente une absorption relative (par chloroplaste) supérieure à celle retrouvée dans le parenchyme palissadique (Terashima & Saeki, 1983). La diffusion est plus importante aux longueurs d'onde faiblement absorbées, comme le vert ($560 \text{ nm} \leq \lambda \leq 490 \text{ nm}$).

Si l'on éclaire la face supérieure d'une telle feuille, la lumière traversera le parenchyme palissadique où elle est partiellement absorbée, puis diffusera dans toutes les directions, y compris vers la source. Dans ce dernier cas, la lumière traversera à nouveau le parenchyme palissadique, pour y subir une absorption partielle, avant d'être réfléchi par la feuille.

L'organisation morphologique des deux parenchymes représente clairement une optimisation de l'utilisation de la lumière puisque la majorité de celle transmise par le parenchyme palissadique retourne vers celui-ci, augmentant considérablement sa probabilité d'absorption (Lee, 1986), sans avoir à investir dans la production de nouveaux pigments (Harnischfeger & Zenk, 1983). Par contre, si l'on éclaire la feuille par sa face inférieure, la lumière, fortement diffusée par le parenchyme lacuneux, sera réfléchi par cette même face (Woolley, 1971). L'organisation bifaciale et la diffusion importante de la lumière à l'intérieur de la feuille en doubleraient le trajet optique (Rühle & Wild, 1979). De plus, elles assureraient une distribution plus uniforme de la lumière à l'intérieur de la feuille (Sharkey, 1985).

Une grande partie des propriétés optiques de la feuille sont attribuables aux particularités morphologiques des tissus constitutifs. Cependant, il nous faut considérer également l'importance de la cuticule à ce chapitre. De façon générale, les caractéristiques physico-chimiques de la cuticule (composition, perméabilité à divers solvants et aux gaz) a fait l'objet de nombreuses études et nous possédons beaucoup d'informations sur ce sujet. Entre autres,

la composition chimique de la cuticule varie d'une espèce à l'autre (Martin & Batt, 1958; Stace, 1966; Baker & Martin, 1967; Eglinton & Hamilton, 1967; Holloway & Baker, 1970; Hull *et al.*, 1975; Jeffree *et al.*, 1975; Baker, 1982). Bien que les caractéristiques générales semblent sous contrôle génétique (Conrad & Neely, 1943; Hull *et al.*, 1975), des variations peuvent être induites par divers paramètres environnementaux (Skoss, 1955; Martin & Batt, 1958 et références citées; Hull *et al.*, 1975 et références citées). Ainsi, les feuilles exposées au soleil produisent une cuticule plus épaisse et dont le contenu en cire est supérieur à celui des feuilles d'ombre (Skoss, 1955). La température de même que la disponibilité en eau affecteraient l'épaisseur et la composition de la cuticule (Skoss, 1955; Hull *et al.*, 1975).

La détermination des propriétés optiques de la cuticule ne semble pas avoir suscité beaucoup d'intérêt. Eglinton & Hamilton (1967) ont proposé que le caractère diffusant (de la lumière) de la surface irrégulière que constitue la cuticule, associée au pouvoir absorbant des divers composés de la couche de cutine (polyphénols), protégeraient la plante contre une exposition excessive aux radiations ultra-violettes (UV). Des variations dans la composition des cires épicuticulaires ont été rapportées chez les feuilles de prunier (*Prunus persica* (L.) Batsch cv. Redhaven) au cours de la saison de croissance (Baker *et al.*, 1979). Ces variations peuvent avoir un effet sur les propriétés optiques de la cuticule et de la feuille.

À l'orientation et à la disposition particulière des cellules dans la feuille, d'autres mécanismes viennent parfois s'ajouter afin d'optimiser l'interception de la lumière tout en réduisant les risques liés à une surexposition (thermodégradation et photodégradation de divers constituants, photoinhibition). La capacité d'orientation des feuilles constitue un tel mécanisme (Ehleringer & Forseth, 1980; Koller, 1990 et références citées). De plus, les chloroplastes peuvent se déplacer de façon à optimiser leur environnement lumineux (Haupt, 1982 et références citées; Haupt & Scheuerlein, 1990 et références citées; Izutani *et al.*, 1990).

C) Relations structure - fonction

Les caractéristiques morphologiques de la feuille traduisent souvent des différences physiologiques importantes d'après lesquelles nous divisons les plantes en divers "types" photosynthétiques. Nous faisons référence ici à la photosynthèse dite en C_3 , en C_4 et du type "CAM" (crassulacean acid metabolism). Cette distinction tient compte de la nature chimique du premier accepteur du CO_2 atmosphérique (C_3 : ribulose biphosphate; C_4 et CAM: phospho-énolpyruvate) et, du moment de cette fixation dans la journée (C_3 et C_4 : de jour; CAM: de nuit). Les distinctions tant morphologiques que physiologiques entre ces groupes ne sont cependant pas toujours évidentes et de nombreuses espèces présentent des adaptations structurales et fonctionnelles intermédiaires (Rathnam & Chollet, 1980; Champigny & Moyse, 1983; Holaday & Chollet, 1984; Bouton *et al.*, 1986; Fladung & Hesselbach, 1987, 1989). Mentionnons que l'érable à sucre et le pois appartiennent au type C_3 .

De façon générale, une grande proportion du volume interne d'une feuille est occupée par de l'air. En fait, de l'air entoure la presque totalité de la plupart des cellules qui gardent un contact physique avec leurs voisines que sur une petite fraction de leur surface (figure 2). La surface interne d'une feuille peut atteindre entre 11 et 50 fois sa surface externe (Nobel *et al.*, 1975; Nobel, 1977). Cette particularité morphologique favorise les échanges gazeux en augmentant considérablement la surface disponible.

La feuille constitue un système semi-clos dont les épidermes déterminent les limites physiques avec le milieu extérieur. C'est par les stomates que s'effectuent les échanges gazeux entre l'intérieur où règne une humidité relative voisinant les 100%, et l'extérieur de la feuille. L'étendue de la surface interne de la feuille ne serait pas un facteur limitant dans les échanges gazeux (Nobel *et al.*, 1975).

Chez les espèces décidues, il existe également une dynamique dans la structure morphologique et l'activité photosynthétique des feuilles selon leur position dans la couronne. Cela tient du fait, qu'au moment de leur émergence, elles reçoivent de la lumière en quantité et en qualité comparables. Cette situation change considérablement lors de la croissance des feuilles. Un gradient important de lumière, et des autres facteurs environnementaux, va s'établir dans l'ensemble de la couronne et conduire à leur transformation, sur le plan structural et fonctionnel, en fonction de leur nouvel environnement lumineux (Vapaavuori *et al.*, 1989).

Nous venons de considérer certaines particularités morphologiques de la feuille (organisation particulière des cellules du chlorenchyme) qui nous ont permis d'examiner ses propriétés optiques. Il nous reste cependant un niveau d'organisation à examiner. Les propriétés optiques de la feuille dépendent également de l'organisation interne des cellules qui joue un rôle important dans la détermination de l'efficacité photosynthétique de la plante.

D) Organisation cellulaire

Une paroi de cellulose constitue l'enveloppe la plus externe de la cellule végétale typique (figure 3). En plus de conférer une certaine rigidité à la cellule (rôle de soutien), la paroi cellulosique prévient l'éclatement de la cellule sous la pression de turgescence exercée par le potentiel osmotique et le potentiel de pression.

Le plasmalemm, une bicouche lipidique dans laquelle baignent des protéines, détermine l'espace occupé par les constituants cellulaires. Alors que la paroi ne joue qu'un rôle secondaire (essentiellement passif) dans le transport de l'eau, des ions et des molécules de part

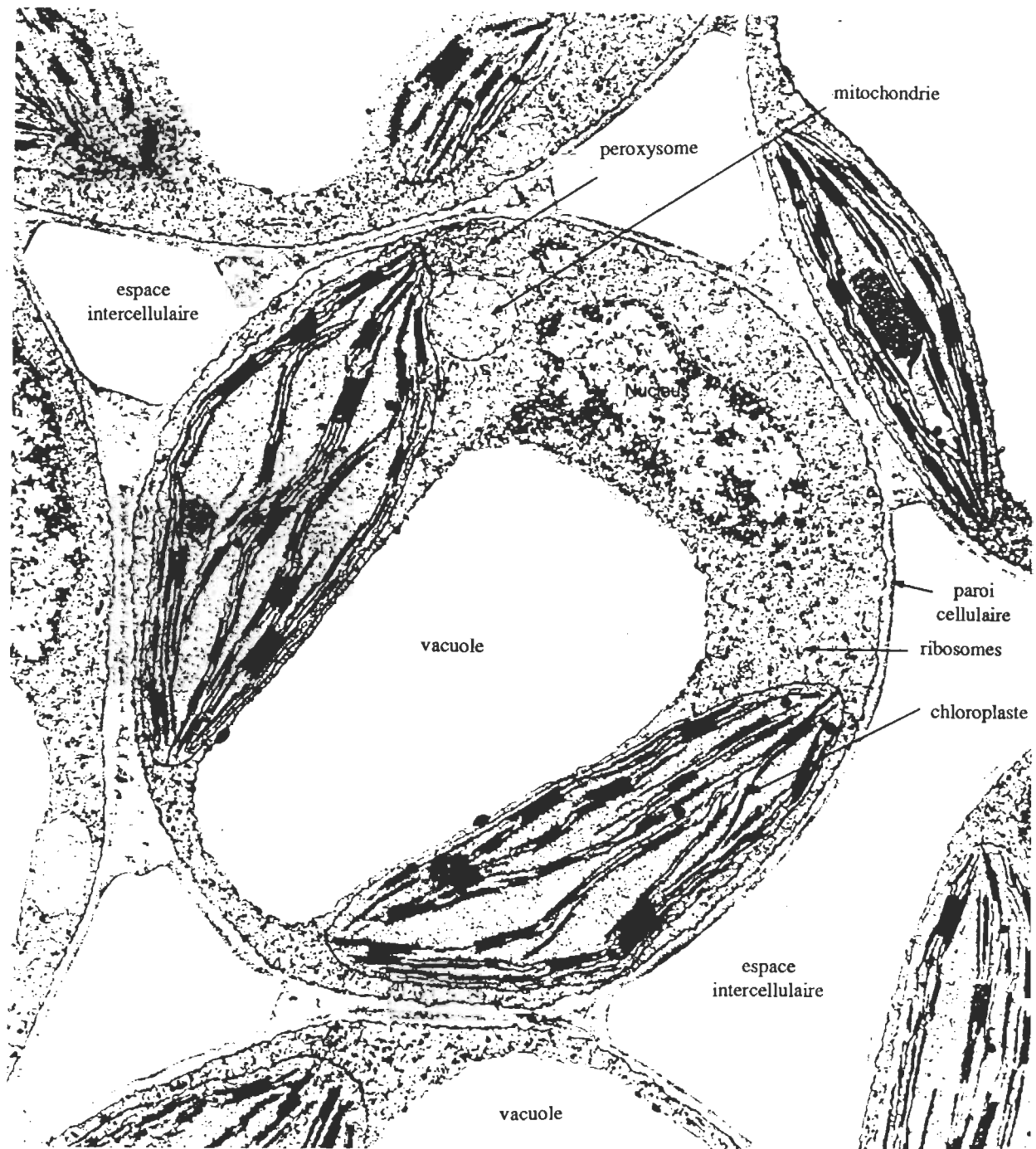


Figure 3. La cellule végétale

Cette coupe transversale des cellules du parenchyme palissadique (photosynthèse type C_3), observée au microscope électronique à transmission, démontre: 1- l'importance des espaces intercellulaires; 2- la disposition préférentielle des chloroplastes face à ces espaces (facilite les échanges gazeux); 3- le volume important occupé par la vacuole. (D'après Prescott, 1988).

et d'autre de la cellule, le plasmalemme, quant à lui, exerce un contrôle important sur le transport de ces substances.

Chez la cellule parenchymateuse mature, une portion importante du volume cellulaire (80 à 90%) se trouve occupé par une vacuole délimitée par une seconde membrane: le tonoplaste. De nombreuses substances (cristaux, huiles, résines, etc...) s'accumulent à l'intérieur de la vacuole. Ce qui reste du volume cellulaire est occupé par le cytoplasme dans lequel baignent de nombreux organites impliqués dans le fonctionnement cellulaire. Parmi ces organites mentionnons le chloroplaste, siège de la photosynthèse. Retrouvé en nombre variable (de 1 à 50), son diamètre moyen varie entre 1 et 10 μm . À l'exception des cellules de garde qui contrôlent l'ouverture des stomates, les cellules de l'épiderme ne possèdent pas de chloroplaste.

L'organisation structurale du chloroplaste dépend en grande partie de son environnement lumineux. Constitué d'une double membrane, il se déplace sous l'action des courants cytoplasmiques (cyclose). La membrane externe détermine le volume occupé par le chloroplaste et contrôle les échanges entre ce dernier et le cytoplasme (figure 4).

La membrane interne présente de nombreux replis, les thylacoïdes, qui occupent une portion variable du volume du chloroplaste. Ces thylacoïdes forment des empilements plus ou moins importants, les grana, reliés entre eux par les lamelles stromatiques. La quantité et la qualité de la lumière parvenant au chloroplaste vont déterminer l'ampleur des empilements. Cette organisation particulière de la membrane interne du chloroplaste optimise l'interception de la lumière.

Sommairement, disons que la capture de l'énergie lumineuse et sa conversion en énergie chimique sous forme de molécules d'ATP (adénosine triphosphate) et de NADPH (forme

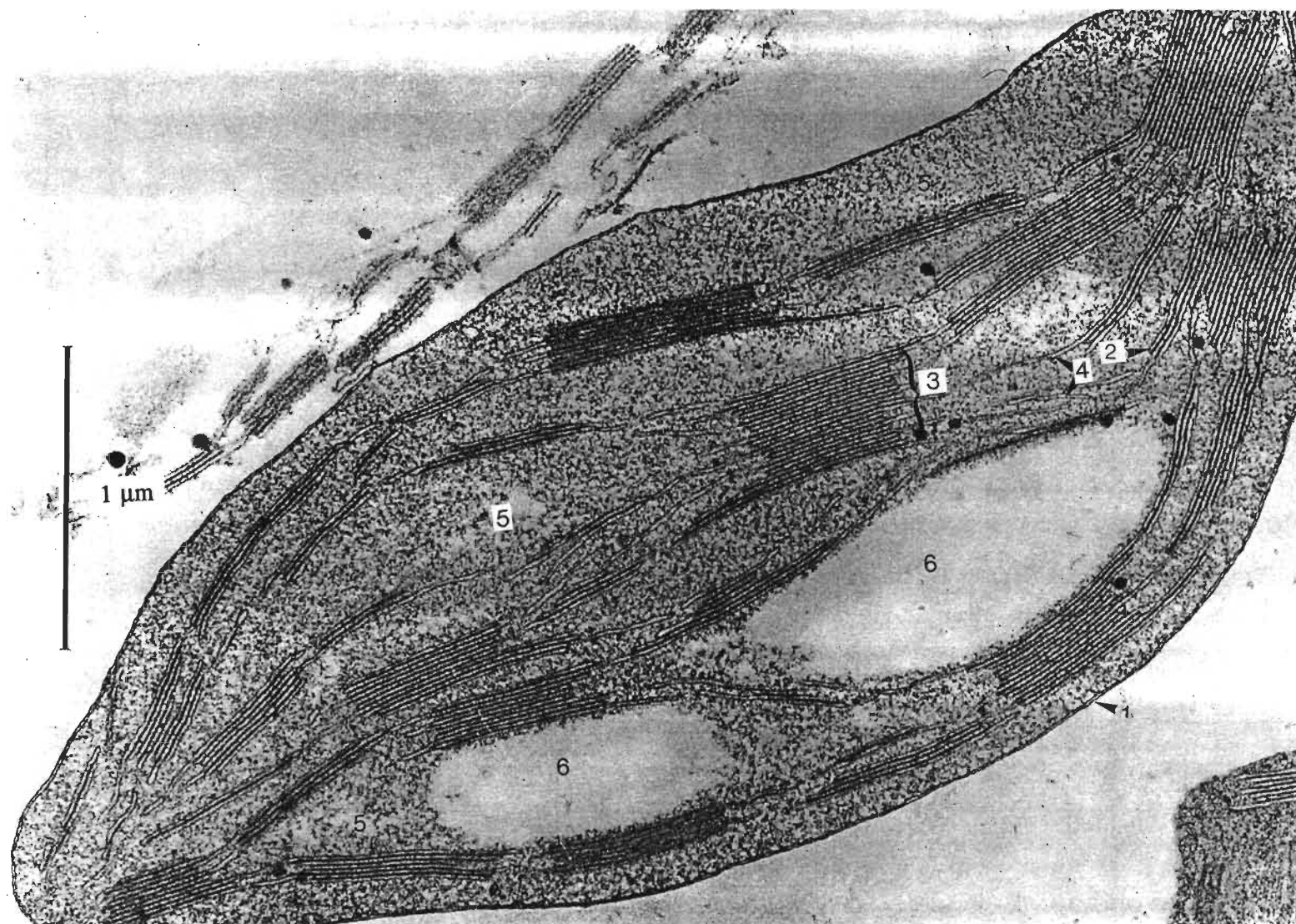


Figure 4. Le chloroplaste

1; membrane chloroplastique; 2: granum; 3- empilement de grana (thylacoïde); 4- lamelles stromatiques;
5- stroma; 6- grains d'amidon. (photosynthèse du type C_3)(D'après Kannangara *et al.*, 1977)

réduite du nicotinamide adenine dinucléotide phosphate) avec production concomitante d'oxygène, s'effectue au niveau de la membrane thylacoïdienne. À leur tour, les molécules d'ATP et de NADPH serviront lors de la fixation du CO_2 atmosphérique dans la portion stromatique (matrice) du chloroplaste où elles auront migré. Cette matrice contient les enzymes nécessaires à la fixation du CO_2 atmosphérique et à la synthèse du glucose, unité de base dans l'architecture cellulaire.

L'oxygène produit lors de la photosynthèse diffuse hors du chloroplaste, dans le cytoplasme puis dans les espaces intercellulaires. Les limitations imposées par la vitesse de diffusion du CO_2 dans la phase aqueuse du cytoplasme¹ et la nécessité de ce gaz dans la photosynthèse se traduisent par la disposition des chloroplastes à proximité des espaces intercellulaires, contre le plasmalemme (figure 3). Ceci a pour effet de réduire le trajet que doit parcourir le CO_2 et l' O_2 vers, ou en provenance du chloroplaste (Colman & Espie, 1985).

Une représentation schématique de la chaîne de transport d'électrons est donnée à la figure 5. Les diverses composantes de cette chaîne y sont représentées de façon simplifiée. Nous voulons que le lecteur retienne l'organisation en série qui requiert l'intervention de deux (photo)systèmes activés par la lumière: le photosystème I (PS I) et le photosystème II (PS II).

L'énergie absorbée au niveau du PS II, directement ou transférée par les complexes collecteurs de lumière (CCL), conduit à l'oxydation d'une molécule² spéciale de chlorophylle située au niveau du centre réactionnel. L'électron ainsi éjecté sera pris en charge par une série de transporteurs localisés dans la membrane chloroplastique. La réduction du PS II s'effectue

1 La vitesse de diffusion du CO_2 dans l'eau est 10 000 fois inférieure à sa vitesse de diffusion dans l'air (Colman & Espie, 1985).

2 La nature monomérique ou dimérique du P680 n'est pas encore élucidée.

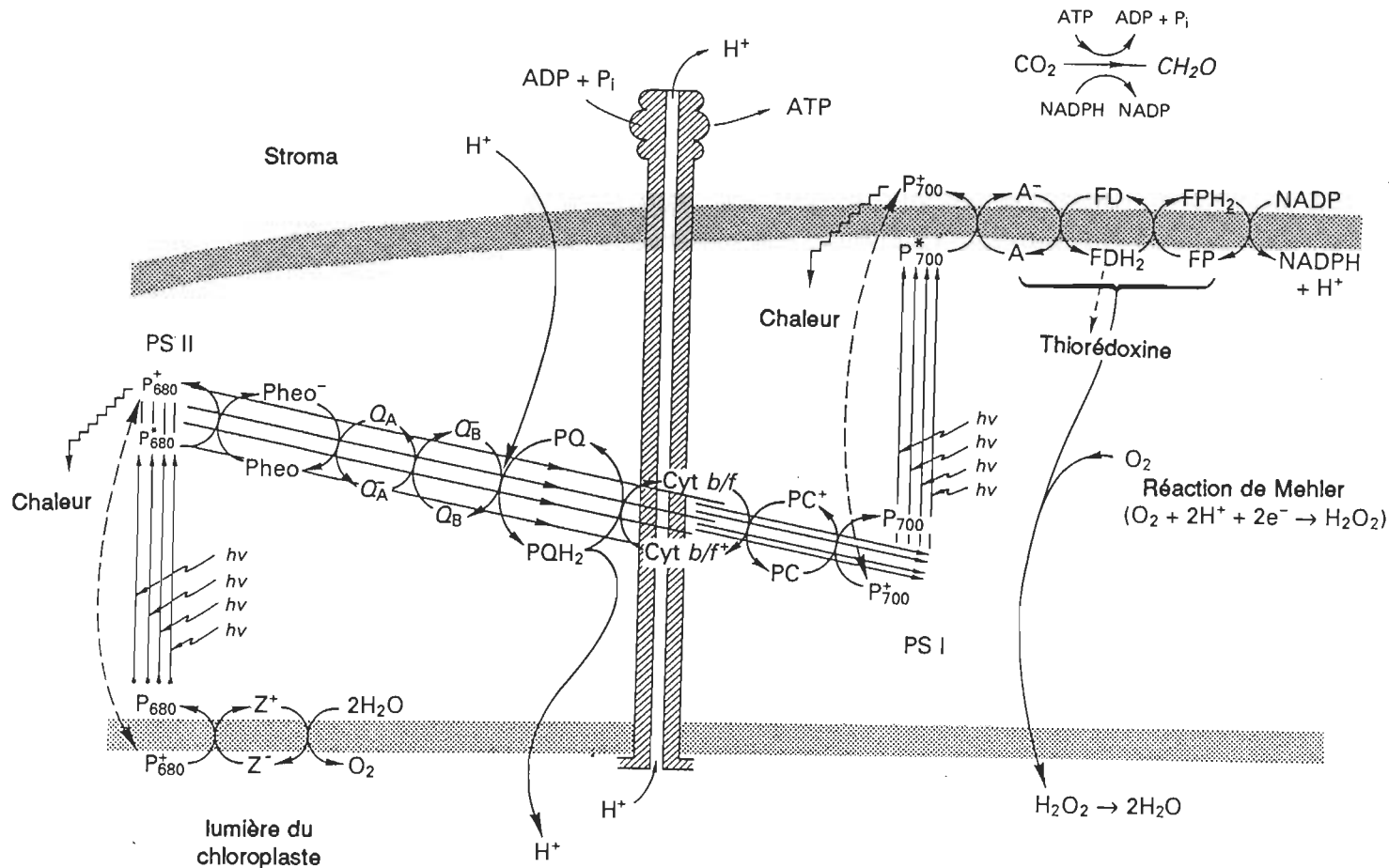


Figure 5. La chaîne de transport d'électrons

A: accepteur(s) du PS I; ADP: adénosine diphosphate; ATP: adénosine triphosphate; cyt: cytochrome; $FD(H_2)$: ferrédoxine (forme réduite); $FP(H_2)$: flavo-protéine (forme réduite); h : constante de Planck; NADP(H): nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (forme réduite); P_{680} : centre réactionnel du PS II; P_{700} : centre réactionnel du PS I; PC: plastocyanine; Pheo: phéophytine; P_i : phosphate inorganique (PO_4^{3-}); PQ: plastoquinone; PQH_2 : plastoquinol (forme réduite de PQ); PS I: photosystème I; PS II: photosystème II; Q_A Q_B : quinones, accepteurs du PS II; Z: donneur d'électrons du PS II (thyrosine); ν : fréquence. Voir explications dans le texte. (D'après Walker, 1992)

au dépend d'une molécule d'eau et fait intervenir d'autres transporteurs membranaires. Cette réaction génère deux sous-produits importants: l'oxygène, qui diffusera hors de la cellule, et l'ion hydrogène (H^+ ou proton). Parallèlement au transport d'électrons du PS II vers le PS I, un pompage actif de protons s'effectue vers l'intérieur du thylacoïde, où s'accumulent à ces derniers les ions H^+ issus de la photolyse de l'eau. Le gradient de protons ainsi créé fournit l'énergie nécessaire pour la synthèse d'ATP sous le contrôle d'une ATPase transmembranaire.

Des photons supplémentaires sont nécessaires pour la suite du transport de l'électron à partir du PS I. Lorsqu'un électron quitte le PS I, d'autres transporteurs interviennent pour conduire ultimement à la génération de NADPH.

E) Activité photosynthétique des feuilles d'érable à sucre

Un examen des données provenant de la littérature sur l'activité photosynthétique de l'érable à sucre s'impose. La figure 6, tirée de Wuenscher & Kozlowski (1970), présente une courbe de l'activité photosynthétique de feuilles d'érable à sucre, exprimée en terme de fixation du CO_2 , en fonction de l'intensité lumineuse. Juxtaposée à celle-ci, nous retrouvons la courbe de résistance¹ stomatique également exprimée en fonction de l'intensité lumineuse.

Ce qu'il faut retenir de cette figure, c'est que la photosynthèse de l'érable à sucre est saturée à une intensité lumineuse légèrement supérieure à celle requise pour induire une résistance stomatique minimale, qui correspond avec l'ouverture maximale des stomates (Wuenscher & Kozlowski, 1970). Ceci indique que la résistance stomatique constitue un

1 La résistance stomatique correspond à l'inverse de la conductivité. Une résistance stomatique qui augmente s'interprète généralement comme la conséquence de la fermeture des stomates.

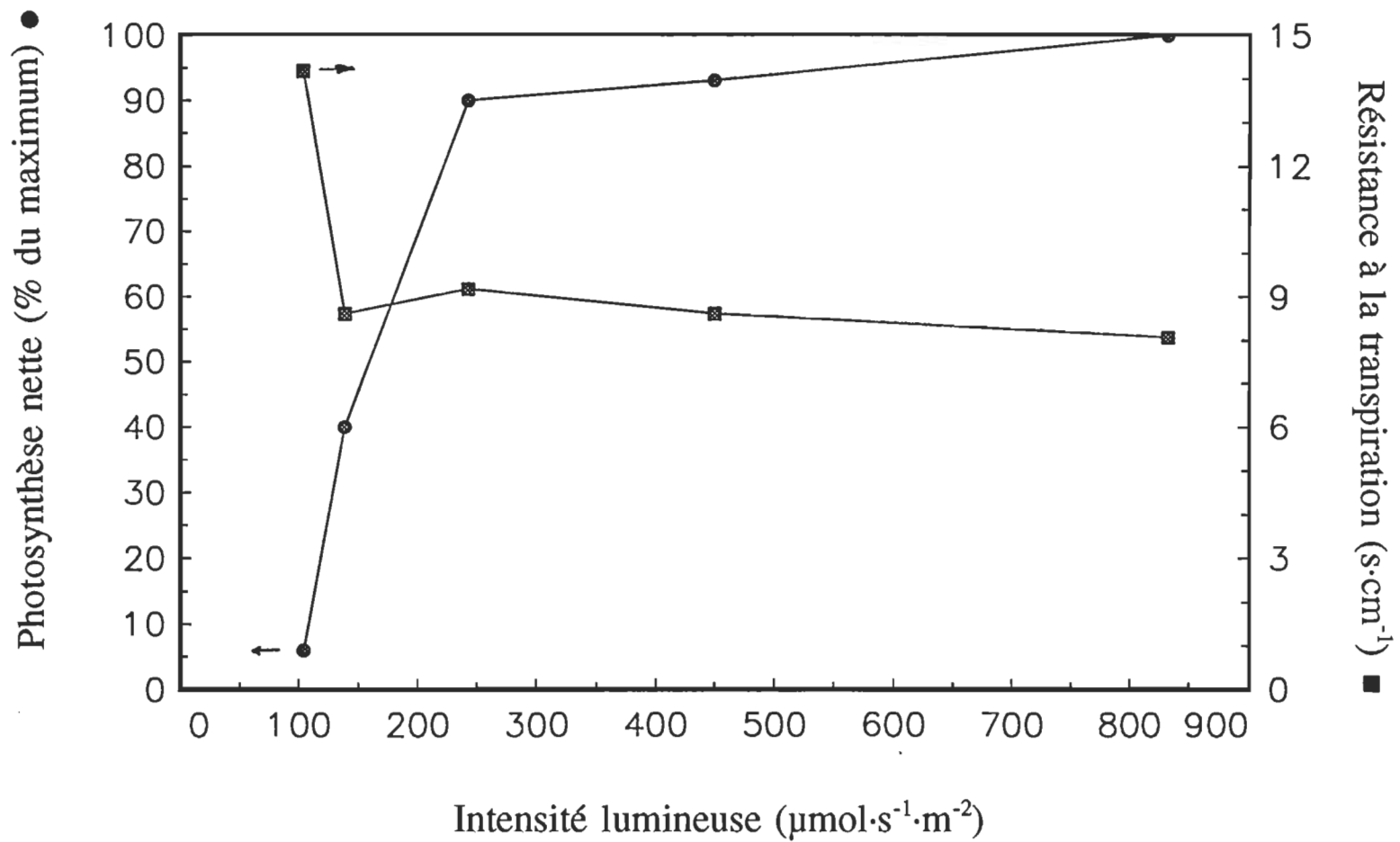


Figure 6. Activité photosynthétique et résistance stomatique de l'érable à sucre en fonction de l'intensité lumineuse

(D'après Wuenscher & Kozłowski, 1970)

empêchement majeur à l'atteinte d'une activité photosynthétique maximale. La faible conductivité stomatique et le peu d'efficacité de la carboxylation expliqueraient l'activité photosynthétique réduite observée chez l'érable à sucre (Ni & Pallardy, 1992). Nous reviendrons sur cette résistance stomatique élevée de l'érable à sucre et son importance potentielle dans la tolérance de cette espèce aux polluants gazeux.

Chez des érables adultes, de 8 à 12 m de hauteur, une intensité lumineuse d'environ 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ (radiations actives photosynthétiquement, RAP) suffit pour saturer la photosynthèse (Reich *et al.*, 1991). Les espèces ligneuses, dont l'érable à sucre, posséderaient un nombre réduit d'unités photosynthétiques mais celles-ci présenteraient un rapport chlorophylle/PS I élevé (Alberte *et al.*, 1976). Cette situation expliquerait le fait que l'activité photosynthétique de ces espèces sature aux basses intensités lumineuses (Alberte *et al.*, 1976).

Mentionnons la faible activité photosynthétique de l'érable à sucre. À titre d'exemple, Logan & Krotkov (1968) rapportent des valeurs de l'ordre de 5.0 à 7.0 $\text{mg CO}_2\cdot\text{dm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ pour des feuilles exposées entre 13 et 100% de la pleine intensité du soleil ($100 \approx 2000 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ RAP). Ledig & Korboro (1983) ont obtenu un taux de fixation moyen de 4.2 $\text{mg CO}_2\cdot\text{dm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ à 25°C. Pour sa part, Reich *et al.* (1983, 1986) présentent une valeur de 6.0 $\text{mg CO}_2\cdot\text{dm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. Ces valeurs sont nettement inférieures à celles rapportées pour d'autres espèces d'arbre comme le pommier (*Pyrus malus* L.) ou le peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides* Michx.) avec des taux de fixation de 22.0 $\text{mg CO}_2\cdot\text{dm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ et 20-21 $\text{mg CO}_2\cdot\text{dm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, respectivement (Larcher, 1969).

CHAPITRE III

POLLUTION ATMOSPHERIQUE ET DÉPÉRISSEMENT FORESTIER

A) Les polluants gazeux

Depuis le début du 20^e siècle, des contaminants de l'air comme le bioxyde de soufre, les oxydes d'azote et les oxydants photochimiques (O₃ et NPA), ont été rapportés dans la plupart des régions industrialisées ou près de celles-ci (Anlauf *et al.*, 1975; Ricci *et al.*, 1978; Ashmore *et al.*, 1980; Walker, 1985; Carlson *et al.*, 1987; Logan, 1989; Lefohn *et al.*, 1990b; Aneja *et al.*, 1992).

1) Effets sur les plantes: généralités

Nous savons que de nombreux processus physiologiques tels que le fonctionnement des stomates, la respiration, l'activité photosynthétique, l'allocation du carbone assimilé et la croissance en général, peuvent être affectés à divers degrés par les polluants atmosphériques. Cependant, plusieurs aspects de leur influence sur la végétation demeurent un sujet d'interrogation. Cette situation tient en partie de la complexité des interactions entre la plante et son environnement. Notre manque d'information tient également à des différences inter- et intra-spécifiques dans la manifestation du stress. De plus, les résultats obtenus, grâce à la multitude des techniques d'analyse utilisées pour évaluer d'éventuels effets des polluants, comportent souvent certaines difficultés quant à leur extrapolation ou leur généralisation.

Notons que la variabilité dans la réponse des plantes de diverses espèces ou variétés a été rapportée pour la disponibilité de l'eau (stress hydrique) et les effets de la température (stress thermique) (Havaux *et al.*, 1987c; Havaux *et al.*, 1988a, b), la résistance à l'aluminium (Marquezini *et al.*, 1990) et la résistance à la photoinhibition (Eyletters & Lannoye, 1991) au moyen de la spectroscopie photoacoustique et de la spectroscopie de fluorescence.

a) Variations intra- et inter-spécifiques

La réponse des plantes aux polluants atmosphériques couvre un large spectre facilement observable chez les espèces d'intérêt agricole ou horticole et pour lesquelles de nombreux cultivars, hybrides ou variétés existent (Hill *et al.*, 1961, 1970; Treshow, 1970; Gentile *et al.*, 1971; Reinert *et al.*, 1972, 1984; Davis & Coppolino, 1974; Oshima *et al.*, 1977; Heagle, 1979 a, b; Harkov & Brennan, 1979; Knudson Butler & Tibbitts, 1979; Dijak & Ormrod, 1982; Anonyme, 1983; Temple, 1990; Barnes *et al.*, 1990a; Wilson & Bell, 1990).

Le patrimoine génétique de chaque plante explique une certaine partie de la variabilité observée dans leur réponse aux polluants comme l'ozone (Taylor *et al.*, 1982), le SO₂ (Wilson & Murray, 1990), ou à tout autre facteur du milieu. Cependant, les conditions environnementales qui prévalent avant, pendant et après l'exposition au polluant, en nature ou en milieu contrôlé, constituent la principale source de cette variabilité (Darrall, 1989; Wilson & Murray, 1990). À cela vient s'ajouter le stade de développement (i.e. cotylédonnaire, juvénile, mature, sénescant, en floraison, en fructification) dans laquelle la plante se trouve au moment de l'exposition. Ce point constitue ce qu'il convient d'appeler la composante ontogénique. Afin d'en tenir compte, nous avons étudié l'effet de l'ozone et du bioxyde de soufre sur des semis de quelques mois et sur des sauvageons d'environ cinq ans.

b) Facteurs environnementaux et expression des symptômes

Des facteurs biotiques intrinsèques, comme le patrimoine génétique et le stade de développement, ou encore extrinsèque, comme la présence de pathogènes, peuvent intervenir dans l'expression des symptômes associés à la présence d'un polluant (Heck, 1966). Il en est de même pour les facteurs abiotiques, comme la biodisponibilité des éléments minéraux et le drainage (facteurs édaphiques), la température, l'humidité relative et le vent (facteurs climatiques), ainsi que la qualité et la quantité de lumière (Heck, 1966).

Les principaux facteurs abiotiques susceptibles de moduler la réaction d'une plante en condition de stress sont: a- le statut nutritif de la plante (Guderian, 1977); b- le bilan hydrique (stress hydrique et humidité relative)(McLaughlin & Taylor, 1980; Atkinson & Winner, 1990); c- la température (Jones & Mansfield, 1982); d- la concentration en bioxyde de carbone atmosphérique; e- la lumière (Atkinson & Winner, 1990); et f- le vent. Ces facteurs ont le potentiel d'augmenter la surface interne disponible pour l'action des polluants dans la feuille (Moldau *et al.*, 1991).

Statut nutritif - Disons simplement qu'une carence nutritive constitue une source supplémentaire de stress capable d'interagir avec celui imposé par la présence d'un polluant pour en exacerber les effets.

Bilan hydrique - Un déficit dans l'approvisionnement en eau ou une baisse importante de l'humidité relative de l'air se traduit habituellement par la fermeture des stomates dont l'une des conséquences est l'exclusion du polluant de l'intérieur de la feuille qui présentera une plus grande résistance à ce dernier. Une telle situation a été observée par Qifu & Murray (1991) lors d'une étude de l'effet combiné du bioxyde de soufre et d'un stress hydrique.

Une réduction dans la conductivité stomatique chez les plantes stressées a d'ailleurs été rapportée par Reich *et al.* (1985) puis par Tingey & Hogsett (1985). De plus, un stress hydrique peut provoquer une fermeture accélérée des stomates en réponse à une exposition à l'ozone (Rich & Turner, 1972).

Température - Une température excessive risque de provoquer un stress hydrique souvent accompagné de la fermeture des stomates. De plus, l'activité des enzymes, comme ceux impliqués dans la fixation photosynthétique du CO₂, dépend étroitement de la température ambiante. L'influence de la température et de l'humidité relative, avant, pendant et après une fumigation à l'ozone a été étudiée par Wilhour (1970) chez des semis de frêne blanc (*Fraxinus americana* L.). Finalement, signalons que les basses températures augmenteraient la sensibilité des plantes au SO₂ (Baker *et al.*, 1982).

Concentration en bioxyde de carbone atmosphérique - Une réduction de la toxicité du SO₂ a été rapportée lorsqu'on augmentait la concentration en bioxyde de carbone lors de la fumigation (Hou *et al.*, 1977; Carlson, 1983). Pour expliquer cette situation, Carlson & Bazzaz (1985) de même que Darrall (1989) ont proposé qu'une augmentation de la concentration en CO₂ ambiant pourrait provoquer la fermeture des stomates et limiter ainsi la pénétration du polluant ou encore augmenter la respiration, ce qui fournirait en plus grande quantité les substrats nécessaires pour les processus de réparation et de détoxification.

Lumière - L'importance de la quantité de lumière utilisée lors des fumigations a également été rapportée dans la littérature. Il semble que l'effet inhibiteur de l'ozone et du bioxyde de soufre, seuls ou en combinaison, sur la photosynthèse soit plus important lorsque la fumigation a lieu à de faibles intensités lumineuses (Dugger *et al.*, 1963; Heck & Dunning, 1967; Ushijima & Tazaki, 1977; Carlson, 1979; Davies, 1980; Mansfield & Jones, 1985).

Vent - En agissant sur l'environnement gazeux immédiat de la feuille, le vent est susceptible de modifier l'humidité relative, la température de la feuille et le transport des polluants. Le vent peut également occasionner la fermeture des stomates avec les conséquences que cela implique. Signalons qu'Ashenden & Mansfield (1977) ont étudié l'importance du vent sur la sensibilité au SO_2 . Dans certain cas, le vent peut également produire des lésions mécaniques susceptibles de modifier les interactions de la feuille avec son environnement.

c) Définitions

Il faut mentionner que la grande variabilité dans la réponse des plantes aux polluants gazeux nous oblige à utiliser des termes descriptifs plutôt que des valeurs précises pour exprimer des situations générales. Ainsi, une concentration *faible* de polluant ne peut être définie par une valeur unique pour l'ensemble des plantes. De façon générale, nous pouvons dire qu'une concentration faible désigne celle dont la valeur est inférieure au seuil produisant des effets sur la photosynthèse pour un spécimen donné, dans des conditions spécifiques.

Un autre point dont il faut discuter concerne les qualificatifs *court terme* et *long terme*. *A priori*, ces expressions, utilisées pour désigner la durée d'un traitement, n'ont pas de valeur absolue. Cependant, nous adopterons les critères utilisés par Darrall (1989) où un traitement (fumigation) de courte durée correspond à une période < 8 h et de ce fait, un traitement de longue durée correspond à une période ≥ 8 h. Signalons que de faibles concentrations de polluants sont généralement utilisées lors des fumigations de longue durée ce qui les rapproche davantage des conditions retrouvées dans la nature. Mentionnons enfin que la réponse des plantes à des fumigations à court terme répétées dépend à la fois de la fréquence du traitement et de la concentration du polluant utilisé (Darrall, 1989).

Bien que nous n'ayons pas l'intention d'examiner cette question en détails, la notion de dose (ou d'indice d'exposition) demeure un problème intéressant. Krupa & Kickert (1987) définissent une dose comme "la quantité exacte ou l'étendue d'un traitement donné auquel un récepteur est soumis à un moment précis ou à des intervalles spécifiés".

La dose exprime la concentration, réelle ou moyenne, de polluant multipliée par la durée de l'exposition (Krupa & Kickert, 1987). Comme l'ont souligné Krupa & Kickert (1987) puis Lee *et al.* (1988), cette définition simpliste ne tient pas compte des variations de la concentration dans le temps, des concentrations maximales atteintes et du moment particulier de l'exposition. Ce dernier point fait référence non seulement à la période de la journée mais également au stade physiologique dans lequel se trouve la plante au moment du traitement.

À la notion de dose s'ajoute le concept ou fonction de dose-réponse qui représente l'expression, qualitative et quantitative, de la réponse d'un organisme à une dose donnée d'un ou d'une combinaison de polluants. Ce concept fait intervenir les notions de dose et de réponse. Les lacunes contenues dans la première vont se répercuter sur l'expression de la relation dose-réponse. Cependant, la complexité de cette relation ne tient pas seulement de la difficulté à exprimer adéquatement la dose à laquelle est soumise la plante.

En effet, cette relation suppose une réponse linéaire de la plante dans le temps. Il appert qu'il en n'est pas toujours ainsi comme en témoignent les résultats de Bennett & Hill (1973), ceux de Matsuoka (1978) puis ceux de Black & Unsworth (1979). Il semble donc que l'expression de la relation dose-réponse ne représente pas adéquatement les phénomènes observés (Darrall, 1989). Il serait plus juste de considérer la dose effective, qui tiendrait compte, non pas de la concentration en polluant à laquelle la plante est soumise, mais plutôt celle qu'elle absorbe, donc qu'elle perçoit réellement.

Alors que des appareils de mesure automatisés permettent une bonne approximation de la dose d'exposition, l'évaluation de la dose effective s'avère beaucoup plus difficile. Une telle évaluation ne pourrait se faire que dans des systèmes fermés (chambres de fumigation), ou semi-fermés (chambre d'exclusion), avec une moindre précision cependant. Dans les deux cas, seules des mesures indirectes peuvent être obtenues. Celles-ci sont imprécises puisqu'il faut tenir compte des interactions, difficiles à quantifier, du polluant avec les diverses surfaces (parois de la chambre, pot, sol,...) autres que les surfaces cibles (la feuille). Nous n'avons relevé aucune mention dans la littérature faisant état de mesures *in situ* de la concentration interne de polluants dans les feuilles qui demeure sujet à spéculations.

2) L'ozone

La pollution de l'air par l'ozone et les autres oxydants photochimiques existe depuis le début du siècle. Pour souligner l'importance de l'ozone en Amérique du Nord, mentionnons que la majorité des terres cultivées des États-Unis et de l'est du Canada présentent des symptômes de toxicité sous forme d'une baisse dans le rendement, de nécroses, etc... ce qui en fait le polluant gazeux le plus répandu en Amérique du Nord (Heck *et al.*, 1982, 1983; McLaughlin, 1985; Maltais, 1991).

a) Sources, chimie et transport

Nous devons la découverte, en 1940, de l'ozone en tant que composante de l'atmosphère au chimiste suisse Schönbein (Ashmore & Bell, 1991). La concentration naturelle

de ce gaz dans la basse troposphère¹ (altitude < 5 km) est principalement déterminée par le taux d'approvisionnement en provenance de la haute troposphère et de la basse stratosphère² (Oltmans & Levy, 1992) et le taux de dilution et de destruction (chimique et physique) à la surface de la terre (Fabian, 1973; Toupance, 1988).

Cet approvisionnement comporte des variations saisonnières (Pruchniewicz, 1970) avec un maximum en fin d'hiver ou en début de printemps, période à laquelle les échanges entre la stratosphère et la troposphère sont les plus efficaces (Danielsen, 1968; Danielsen & Mohnen, 1977; Mahlman & Moxim, 1978). Quant à elle, la concentration moyenne d'ozone troposphérique démontre une variation périodique dans le temps (Van Dop *et al.*, 1977) avec un cycle journalier caractéristique: maximum en fin d'après-midi et minimum la nuit (Samson, 1978). Il existe également une variation en fonction de l'altitude, la concentration en ozone augmentant en fonction de l'élévation (McLaughlin, 1985; Prinz *et al.*, 1985). À cela vient s'ajouter une dépendance latitudinale de la concentration (Tiefenau *et al.*, 1972; Dignon & Hameed, 1985). Enfin, la destruction de l'ozone à la surface de la terre dépend de la nature de la surface avec laquelle il vient en contact (Hov, 1984; Hargreaves *et al.*, 1992).

Il résulte de l'ensemble de ces processus d'alimentation et de destruction une concentration³ naturelle moyenne au niveau du sol variant entre 20.0 et 80.0 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (10 et 40 ppb) aux latitudes moyennes de l'hémisphère nord (Fabian & Pruchniewicz, 1973; Almqvist, 1974; Altshuller, 1987; Ashmore & Bell, 1991). De cela, il faut conclure que les concentra-

1 Troposphère: zone située à partir de la surface du globe jusqu'à une altitude variant entre 6 et 18 km.

2 Stratosphère: zone située entre la troposphère et la mésosphère à plus de 50 km d'altitude. C'est précisément dans cette portion de notre atmosphère que se trouvent les trous.

3 Facteurs de conversion à 25°C 1 ppb d' O_3 \approx 1.962 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$
1 ppb de SO_2 \approx 2.620 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$

tions excédant largement ces valeurs et ne pouvant être expliquées par une augmentation du transport en provenance de la stratosphère, sont issues d'une production photochimique dans la basse (5 km et moins) troposphère (Wisse & Velds, 1970; Altshuller, 1987).

Cette situation prévaudrait en Europe où la concentration d'ozone en région urbaine peut atteindre facilement $588.6 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (300 ppb) (Almqvist, 1974) de même qu'en Amérique du Nord où des pics de $1177.2 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (600 ppb) ont été mesurés dans la région de Los Angeles (Ashmore *et al.*, 1985). Des concentrations saisonnières moyennes de 78.5 à $117.7 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (40 à 60 ppb) avec des épisodes de 196.2 à $392.4 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (100 à 200 ppb) s'observent à plusieurs endroits en Europe et en Amérique du Nord (Guderian *et al.*, 1985; Heagle, 1989). Durant la saison de végétation, la concentration moyenne d' O_3 troposphérique au Québec se situe entre 58.9 et $98.1 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (30 et 50 ppb) (figure 7). À certaines concentrations, l'ozone troposphérique présente une grande phytotoxicité responsable de nombreux problèmes observés en horticulture, en agriculture et en foresterie.

Précisons que, suite aux réactions de photodissociation de l'oxygène moléculaire sous l'action des radiations solaires, l'ozone stratosphérique va démontrer une dynamique de production et de destruction. Les rayonnements de haute intensité dans la région des radiations UV fournissent l'énergie nécessaire pour ces réactions. Le flux des radiations UV solaires, plus particulièrement aux longueurs d'onde inférieures à 248 nm, de même que les propriétés optiques de l'atmosphère vont déterminer le taux de production d'ozone stratosphérique et troposphérique.

La faible concentration en oxygène constitue un facteur limitant pour cette formation au-delà de la haute stratosphère. Dans la basse stratosphère et dans la troposphère, c'est la faible pénétration des rayonnements UV qui limite la production d'ozone (McFarland

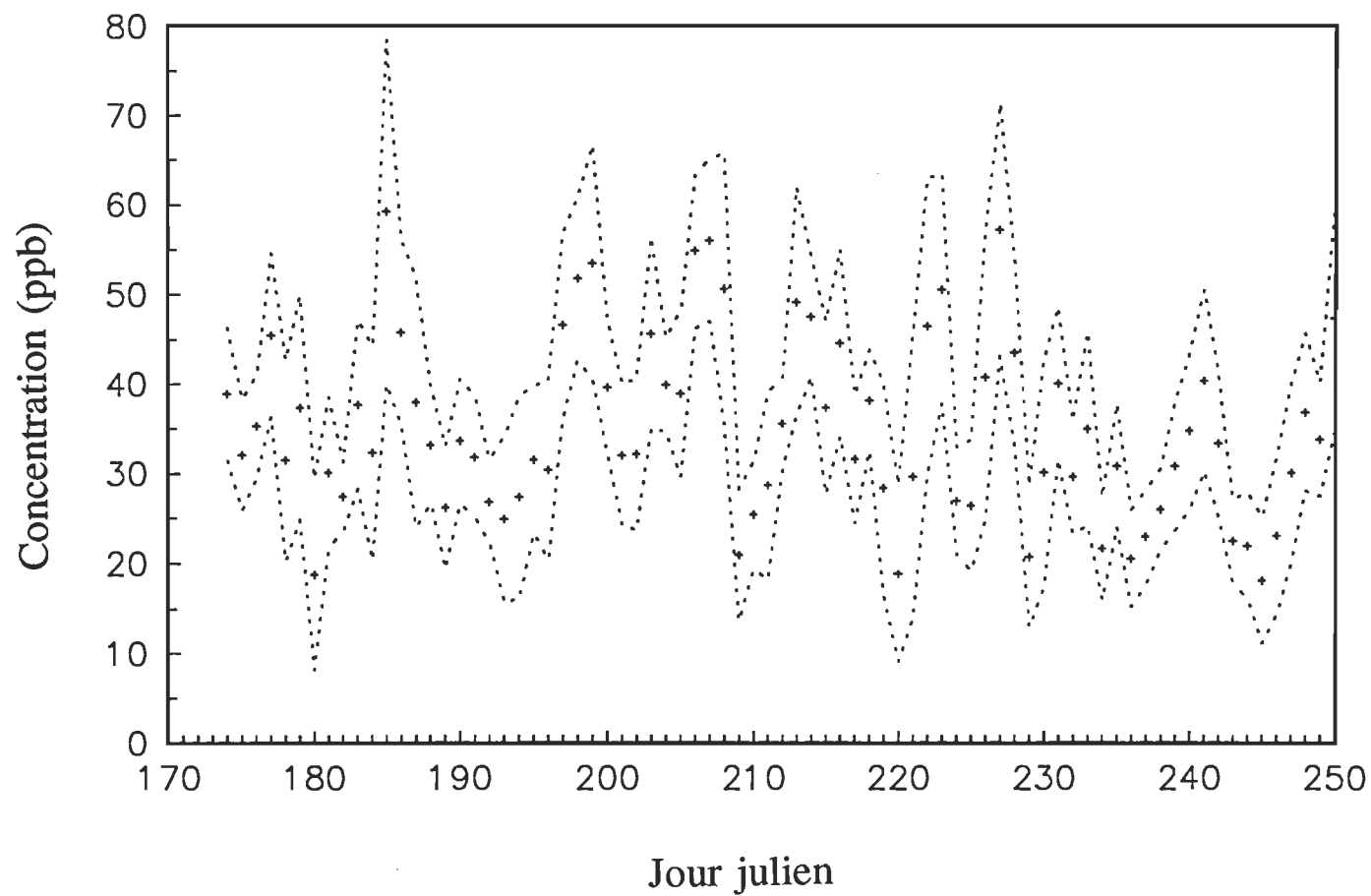


Figure 7. Concentration ambiante moyenne d'ozone sur le site expérimental de Tingwig au cours de l'été 1989

+ : moyenne journalière; ... : \pm écart-type; 170 = 19 juin.
(Source: Guy Boudreault, communication personnelle).

& Kaye, 1992). La pénétration directe des radiations solaires au niveau de l'équateur y favorise une production maximale d'ozone. De plus, la présence d'oxydes d'azote, particulièrement aux concentrations inférieures à 1 ppb, et d'hydrocarbures réactifs sont nécessaires à la production d'ozone photochimique (Altshuller, 1987).

Le transport vertical de ces constituants, associé au gradient d'intensité lumineuse, contribue à la production préférentielle d'ozone à une certaine distance du sol (Van Dop *et al.*, 1977). Quant à elle, la distribution horizontale de l'ozone va dépendre du brassage des masses d'air. Ce polluant se retrouve donc sur de très grandes surfaces sans présenter un gradient bien défini de concentrations. Cette large distribution de l'ozone dans l'environnement en fait, depuis fort longtemps, la principale cause des dommages par pollution aux plantes aux États-Unis (Hill *et al.*, 1970).

L'ozone constitue donc un polluant dit secondaire puisqu'il résulte de la transformation d'autres composés sous l'action des radiations UV (principalement dans la haute stratosphère où sont ces fameux trous, mais également dans la troposphère (voir Megie, 1988)). Une fraction importante des radiations UV est donc absorbée dans la stratosphère par la couche d'ozone. Cet écran naturel protège les organismes contre un excès de rayonnement UV et son action mutagène (Ashmore & Bell, 1991).

Une étude approfondie des mécanismes de production de l'ozone d'origine anthropogène nécessite également l'analyse de nombreux précurseurs impliqués dans cette production. Cependant, ce point dépasse largement le cadre du présent travail. Mentionnons néanmoins la complexité des réactions impliquées dans la formation des oxydes d'azote, des précurseurs importants de l'ozone (De Soete, 1989).

b) Effets sur l'appareil photosynthétique: structure et fonction

Les premières études en laboratoire sur la phytotoxicité de l'ozone remontent en 1937 (Homan, 1937). Des dommages aux plantes attribuables aux oxydants photochimiques ont été rapportés aussitôt qu'en 1944 (Middleton *et al.* 1950). Cependant, il faut attendre jusqu'en 1958 avant que l'ozone soit identifié comme la composante responsable du caractère phytotoxique des "smog" (Richards *et al.*, 1958). L'évaluation des dommages se basait alors sur la présence de symptômes visibles (chloroses, nécroses) sur le feuillage des plantes affectées. Par la suite, des mesures de la croissance et du rendement des plantes d'intérêt économique allaient permettre de quantifier les effets de l'ozone et des autres polluants. Un nombre suffisant d'études nous permet de distinguer divers niveaux d'action de ces polluants.

L'activité photosynthétique d'une plante dépend de l'intégrité structurale et fonctionnelle de divers organites cellulaires et de leurs interactions. À ce sujet, le site premier d'attaque de l'ozone serait les membranes (Mudd *et al.*, 1984; Heath & Castillo, 1988), où son action se manifeste via divers mécanismes d'oxydation (Sakaki *et al.*, 1983; Guderian *et al.*, 1985; Heath, 1987, 1988).

L'ozone serait en mesure de peroxyder les constituants lipidiques des membranes (Chia *et al.*, 1984; Dodge & Gilham, 1986) en réagissant directement avec les doubles liaisons des acides gras insaturés (Heath, 1987). Cette réaction s'effectue par la formation de radicaux hydroxyles suite à la décomposition rapide de l'ozone en solution à la surface des parois cellulaires et dans le plasmalemme (Grimes *et al.*, 1983; Laisk *et al.*, 1989) et/ou par la production d'hydroxyperoxydes organiques qui implique la réaction des alkènes tel que l'éthylène (Mehlhorn & Wellburn, 1987; Heath, 1988; Shoaf & Menzel, 1988; Hewitt *et al.*, 1990). Cependant, selon Mudd *et al.* (1971) ainsi que Nouchi & Tokama (1988), l'effet

de l'ozone serait plus important au niveau de la biosynthèse des acides gras qu'au niveau de l'oxydation directe des lipides. En plus de lipides, il appert que les protéines membranaires seraient, elles aussi, attaquées par l'ozone (Dominy & Heath, 1985).

L'ozone agit sur l'intégrité structurale des cellules de la feuille ainsi que sur le métabolisme de la plante principalement via la génération d'espèces toxiques dérivées de l'oxygène ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH^{\cdot}) (Grimes *et al.*, 1983; Mehlhorn & Wellburn, 1988; Fangmeier *et al.*, 1990; Mehlhorn *et al.*, 1990). Leur présence, au niveau cellulaire, est souvent reliée à une situation de stress (Elstner *et al.*, 1988; Heath & Castillo, 1988; Alscher, 1989). Ces espèces chimiques très réactives peuvent conduire à la destruction des pigments (Sakaki *et al.*, 1983), à la peroxydation des lipides et à l'altération de l'ultrastructure des chloroplastes (Jung & Wild, 1988; Miyake *et al.*, 1989). Ces modifications au niveau structural (lipides et/ou protéines) vont se répercuter sur l'ensemble du métabolisme de la plante dont l'une des conséquences les plus connues demeure la réduction de l'activité photosynthétique (tableau 1).

Divers mécanismes de détoxification, tels que l'élimination des radicaux libres et de l'oxygène singulet en conjonction avec la superoxyde dismutase (Lee & Bennett, 1982; Bennett *et al.*, 1984; Rao & Dubey, 1990), la glutathion reductase, l' α -tocophérol et l'acide ascorbique (Guri, 1983; Lee *et al.*, 1984; Chameides, 1989); la réduction des hydroxyperoxydes par la glutathion reductase (Guri, 1983) et certains catalyseurs; la séparation et l'élimination des catalyseurs métalliques des sites d'action par des protéines et des agents chélateurs (Halliwell, 1982; Chow, 1988), peuvent jouer en faveur d'une résistance accrue. Ces processus au sein des cellules parenchymateuses du mésophylle explique une partie de la variation dans la sensibilité des plantes à l'ozone (Moldau *et al.*, 1991). Lee (1991) a démontré qu'une grande résistance à l'ozone était associée à une augmentation de la concentration en acide ascorbique chez un cultivar de fève soja (*Glycine max* L.) résistant à ce gaz. L'acide

Tableau 1

Sommaire des effets de l'ozone sur les plantes: biochimie

NIVEAU BIOCHIMIQUE	
oxydation des liaisons sulfhydryles et des doubles liaisons des acides gras	Sakaki <i>et al.</i> , 1983, 1985 Guderian <i>et al.</i> , 1985 Heath, 1987, 1988
bris des liaisons ester par les radicaux libres	Mackay <i>et al.</i> , 1987
réduction de la concentration en acide linoléique	Nouchi & Tokama, 1988
augmentation de la perméabilité membranaire	Evans & Ting, 1973 Mudd <i>et al.</i> , 1984 Heath & Castillo, 1988
augmentation de l'activité des catalases	Morré <i>et al.</i> , 1990
inhibition, réversible ou irréversible, de l'activité photosynthétique avec ou sans augmentation de la respiration mitochondriale	Barnes, 1972 Mann <i>et al.</i> , 1980 Black <i>et al.</i> , 1982 Coyne & Bingham, 1982 McLaughlin <i>et al.</i> , 1982 Yang <i>et al.</i> , 1983a, b Keller & Häslér, 1984, 1987 Reich & Amundson, 1985 Tseng <i>et al.</i> , 1988 Aben <i>et al.</i> , 1990 Spence <i>et al.</i> , 1990 Wallin <i>et al.</i> , 1990
réduction de l'assimilation du CO ₂	Taylor <i>et al.</i> , 1961 Miller <i>et al.</i> , 1969
réduction de la concentration en polysaccharides et en sucres foliaires	Miller <i>et al.</i> , 1969 Amundson <i>et al.</i> , 1991
modification (augmentation ou réduction) de l'activité de la nitrate réductase	Labeda & Alexander, 1978 Smith <i>et al.</i> , 1990
augmentation de la concentration en polyamines (putrescine et spermidine)	Kramer <i>et al.</i> , 1991
synthèse d'anthocyanines	Koukol & Dugger, 1967

ascorbique doit ce pouvoir protecteur à sa capacité de réagir avec les radicaux libres (Lee, 1991). Ce rôle de protection ne se limite pas au cas de l'ozone mais couvre d'autres stress impliquant la production de tels radicaux.

La baisse dans la photosynthèse, exprimée en terme de consommation nette de CO_2 par unité de surface foliaire en présence de lumière saturante, peut impliquer un ou plusieurs des trois facteurs suivants: 1- la réduction de l'efficacité à fixer le CO_2 (carboxylation moins efficace); 2- la réduction du taux de régénération de la ribulose biphosphate carboxylase; ou 3- l'augmentation de la résistance stomatique (Darrall, 1989; Guderian *et al.*, 1985; Farage *et al.*, 1991). Chez la plante, la photosynthèse ne constitue pas le seul processus susceptible d'être affecté par la présence de l'ozone dans l'environnement.

Plusieurs équipes ont rapporté une augmentation de la respiration mitochondriale ("dark respiration") parallèlement à une réduction de l'activité photosynthétique (Barnes, 1972; Aben *et al.*, 1990; Spence *et al.*, 1990). Cette réaction normale permet à la plante de produire l'énergie, sous forme de molécules d'ATP, nécessaire pour maintenir les réactions de défense et de réparation. Nous verrons que ces variations, en sens opposées, de la photosynthèse et de la respiration mitochondriale compliquent notre interprétation du signal PA.

c) Effets sur la physiologie de la plante

L'ozone possède le potentiel pour modifier divers processus physiologiques (répartition du carbon assimilé, rendement, floraison...) en agissant directement sur certaines structures cellulaires ou en réduisant l'activité photosynthétique. Nous présentons de façon succincte, au tableau 2, certains des processus physiologiques affectés par l'ozone.

Tableau 2

Sommaire des effets de l'ozone sur les plantes: physiologie et morphologie

NIVEAU PHYSIOLOGIQUE	
réduction de la conductance stomatique	Coyne & Bingham, 1982 Reich & Amundson, 1985 Sanders <i>et al.</i> , 1992
altération de la réaction des stomates (augmentation de la transpiration, fermeture des stomates,...)	Engle & Gabelman, 1966 Chappelka <i>et al.</i> , 1988 Barnes <i>et al.</i> , 1990b
lessivage foliaire accru	Rehfuess <i>et al.</i> , 1982
réduction du contenu en amidon des feuilles, des graines	Meier <i>et al.</i> , 1990 Fuhrer <i>et al.</i> , 1990 et références citées
sénescence foliaire accélérée abscission hative (feuilles et/ou fruits)	Noble & Jensen, 1980 Jensen, 1982 Reich, 1983 Reich & Lassoie, 1985 Heagle, 1989 Findlay & Jones, 1990 Kasana, 1991
réduction du transport des métabolites vers les racines	McLaughlin & McConathy, 1983 Spence <i>et al.</i> , 1990
réduction de la respiration des racines	Edwards, 1991
réduction du transport des racines vers la tige	Hogsett <i>et al.</i> , 1985 Chappelka & Chevone, 1986
réduction de la croissance racinaire	Wiselogel <i>et al.</i> , 1991
réduction de la masse sèche (totale, tige, racine)	Wiselogel <i>et al.</i> , 1991
réduction de la résistance au froid	Brown <i>et al.</i> , 1987 Barnes & Davison, 1988 Lucas <i>et al.</i> , 1988 Fincher <i>et al.</i> , 1989 Eissenstat <i>et al.</i> , 1991 Wolfenden & Wellburn, 1991

Tableau 2 (suite)

NIVEAU PHYSIOLOGIQUE (SUITE)	
réduction de la croissance	Kress & Skelly, 1982 Hogsett <i>et al.</i> , 1985 Reich & Lassoie, 1985 Chappelka & Chevone, 1986 Shafer <i>et al.</i> , 1987 Adams <i>et al.</i> , 1988 Heagle, 1989
réduction du rendement	Heagle, 1989
NIVEAU MORPHOLOGIQUE	
modification de l'ultrastructure membranaire et cellulaire (chloroplastes, mitochondries,...)	Thomson <i>et al.</i> , 1966, 1974 Evans & Miller, 1972 Swanson <i>et al.</i> , 1973 Pell & Weissberger, 1976 Sutinen, 1987 Miyake <i>et al.</i> , 1989 Sutinen <i>et al.</i> , 1990
réduction de la croissance du tube pollinique	Feder & Shrier, 1990 et références citées
réduction de la densité du bois	Patton, 1981
réduction de la longueur des trachéides	Wachsmutch <i>et al.</i> , 1974

La réduction de la conductance stomatique offre une certaine protection en réduisant les échanges gazeux entre la feuille et l'atmosphère. Cette limitation dans le déplacement des gaz n'est cependant pas sélective. Ainsi, une réduction prolongée de la conductance stomatique peut se traduire par une chute de l'activité photosynthétique attribuable à une baisse de la concentration interne de CO_2 . Cette exemple démontre bien l'intégration des divers processus au sein de la plante.

D'autres effets de l'ozone, tel que la sénescence foliaire accélérée, la réduction du transport de l'eau et des sels minéraux des racines vers la tige ou la réduction du transport des métabolites des feuilles vers les racines peuvent conduire à une baisse du rendement des plantes. Ce sont ces effets d'une grande incidence économique (Temple, 1990) qui motivent en grande partie les recherches sur l'ozone.

Cependant, les manifestations des effets de l'ozone sur la plupart des processus physiologiques s'avèrent souvent trop tardives (répartition du carbone, floraison,...) ou trop peu spécifiques (fermeture des stomates, augmentation de la respiration,...) pour présenter un intérêt quelconque dans l'optique d'un dépistage hâtif d'une exposition à ce polluant.

d) Effets sur la morphologie de la plante

La présence de divers types de lésions foliaires constitue fort probablement l'effet le plus évident de l'ozone sur les plantes. À ce sujet, Hibben (1969) donne une excellente description des symptômes de toxicité de l'ozone dans le cas particulier de l'érable à sucre. Cependant, ces lésions succèdent à des modifications plus subtiles aux niveaux cellulaire (altération des constituants lipidiques et des protéines) et physiologique (activités

photosynthétique et métabolique). De ce fait, la présence de lésions ne peut pas servir de critère pour l'établissement d'un diagnostic précoce d'exposition à ce polluant.

Suite à la réduction de l'activité photosynthétique et/ou à certaines modifications au niveau physiologique, la plante peut présenter une réduction de sa surface foliaire, du nombre de fruits et de leur masse fraîche, ou même de la densité du bois. Ces changements possèdent le potentiel d'abaisser la valeur marchande de la plante.

e) Généralités

Parmi les facteurs proposés pour expliquer la différence de sensibilité à l'ozone et au NPA, Guderian *et al.* (1985) ont retenu: 1- le taux différentiel d'absorption de polluant par unité de surface qui dépend du développement ainsi que de la distribution des stomates fonctionnels; 2- la distribution non uniforme dans la feuille de polluant absorbé et son influence sur la quantité atteignant les sites sensibles, distribution qui dépend des caractéristiques morphologiques de la feuille. Ainsi, parce que les cellules du parenchyme palissadique démontrent une plus grande sensibilité à l'ozone que les autres cellules de la feuille (Hill *et al.*, 1970), il en résulte une certaine polarisation des dommages observés.

Les différences de sensibilité à l'ozone attribuables à l'âge de la feuille, au cultivar ou à l'espèce sont bien établies (Beckerson *et al.*, 1979; Nouchi & Aoki, 1979; Reich & Amundson, 1985; Nouchi *et al.*, 1988). Par exemple, une plus grande sensibilité à l'ozone a été rapportée pour des feuilles ayant atteint 50-95% de leur taille maximale (Ting & Dugger, 1968; Hill *et al.*, 1970; Tingey *et al.*, 1973; Evans & Ting, 1974; Townsend & Dochinger, 1974). Alors que les jeunes feuilles démontrent généralement une bonne résistance à l'ozone,

celle des feuilles matures varie selon les espèces. Cette variation de la sensibilité à l'ozone en fonction de l'âge de la feuille a également été observée chez l'érable à sucre (Guderian, 1977). De plus, Hibben (1969) a démontré la résistance supérieure du feuillage immature de l'érable à sucre à l'ozone, comparativement au feuillage mature.

Cette variation ne se limite pas au cas des feuilles d'âge différent mais peut également se manifester de façon marquée au sein d'une même feuille où s'observent des différences importantes, attribuables à l'âge des divers tissus constitutifs (Kasana, 1991). Ainsi, des zones ne présentant aucun symptôme peuvent se retrouver adjacentes à d'autres régions visiblement endommagées (Glaser *et al.*, 1962; Evans, 1973). De façon plus particulière, chez les Dicotylédones, cette situation tient de la différenciation progressive des tissus de la feuille qui crée un gradient de sensibilité de l'apex (sensible) vers la base (moins sensible) de la feuille (Menser *et al.*, 1963; Hill *et al.*, 1970).

Il convient de faire une distinction entre une différence de sensibilité attribuable à l'âge du tissu ou de la feuille et celle reliée au stade de développement de la plante (Hill *et al.*, 1961; Ting & Dugger, 1968; Jones & Mansfield, 1982; Kasana, 1991). En général, les plantules (stade cotylédonnaire) semblent particulièrement sensibles (Hill *et al.*, 1970), bien qu'il soit difficile de dégager une tendance commune à l'ensemble des espèces.

3) Le bioxyde de soufre

Le SO₂ se retrouve à des concentrations phytotoxiques près ou dans de nombreuses régions industrialisées. L'étude de ses effets sur la photosynthèse, les processus biochimiques et physiologiques de la plante comporte un intérêt certain. La grande solubilité du SO₂ dans

l'eau nous oblige à considérer également la toxicité des ions sulfite et à un degré moindre, des ions sulfate (SO_4^{2-}).

a) Sources, chimie et transport

Le cas du bioxyde de soufre est fort différent de celui de l'ozone. La synthèse ou plutôt la libération du bioxyde de soufre constitue un procédé relativement simple puisque ce gaz provient essentiellement de la consommation des combustibles fossiles (charbon et pétrole) ainsi que du traitement du minerai (métaux non ferreux). Alors que la contribution du second connaît une baisse substantielle depuis les dix dernières années, l'importance des combustibles fossiles dans la pollution par le SO_2 ne cesse d'augmenter. Enfin, une quantité importante de SO_2 est produite de façon naturelle (Plane, 1989).

Un polluant primaire tel que le bioxyde de soufre provient de sources qui peuvent être identifiées. L'existence de sources fixes (centrales thermiques) et mobiles (automobiles, avions,...) va se traduire par l'établissement d'un gradient de concentrations dont les valeurs maximales se retrouvent près de la source. L'ampleur de la distribution du SO_2 dépendra de la vitesse et de la direction des vents. Sa distribution se révèle limitée en comparaison avec celle de l'ozone pour lequel il n'existe pas de gradient bien défini (Ashmore & Bell, 1991).

Les concentrations moyennes de bioxyde de soufre rapportées dans la littérature varient entre 0.28 et $2.8 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (0.1 et 1.1 ppb) en région naturelle et entre 20.0 et $524.0 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (7.6 et 200.0 ppb) en région urbaine (Almqvist, 1974; Ottar, 1978; Prinz & Brandt, 1985). Cependant, des concentrations maximales atteignant $1879 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (717 ppb) ont été rapportées

dans des régions industrialisées d'Australie (E.P.A., 1989). Les concentrations mensuelles moyennes de bioxyde de soufre, de bioxyde d'azote et d'ozone pour deux stations d'échantillonnage du Québec sont présentées aux figures 8 et 9.

Le SO_2 peut subir certaines transformations dans l'environnement (Anderson *et al.*, 1989; Plane, 1989) qui conduisent, entre autres, à la production de dépôts secs, d'aérosols acides et de soufre élémentaire. Environ 50% du SO_2 provenant de l'activité humaine est oxydé par les gouttelettes d'eau présentes dans les nuages (Langner *et al.*, 1992)(voir équation page 48). De plus, du tétrathionate et des thiosulphates sont produits suite à l'oxydation naturelle du soufre ou suite à l'action microbienne du sol (Wainwright, 1978).

L'entrée du SO_2 dans la feuille peut s'effectuer de plusieurs façons. Sous forme gazeuse, le SO_2 pénètre à l'intérieur de la feuille essentiellement par les stomates (Barrett & Benedict, 1970)(figure 10). Cette voie est d'ailleurs privilégiée par les autres polluants gazeux (NO_x , NPA, O_3 ,...). Il devient alors évident que tout facteur susceptible de modifier le fonctionnement des stomates affectera par le fait même l'entrée des polluants gazeux dans la feuille et leur toxicité potentielle (voir pages 25 à 27). Par exemple, la résistance des plantes au bioxyde de soufre augmente lorsque l'humidité du sol approche le point de flétrissement (Zimmerman & Croker, 1934). Les plantes vont démontrer une plus grande résistance aux polluants gazeux durant la nuit, quand les stomates sont fermés. Une fois à l'intérieur de la feuille, où règne une humidité relative voisinant 100%, le SO_2 peut diffuser dans l'ensemble du réseau des espaces intercellulaires.

La grande solubilité du SO_2 dans l'eau (Hales & Sutter, 1973; Hocking & Hocking, 1977) conduit à la formation d'acide sulfurique suivant la réaction:

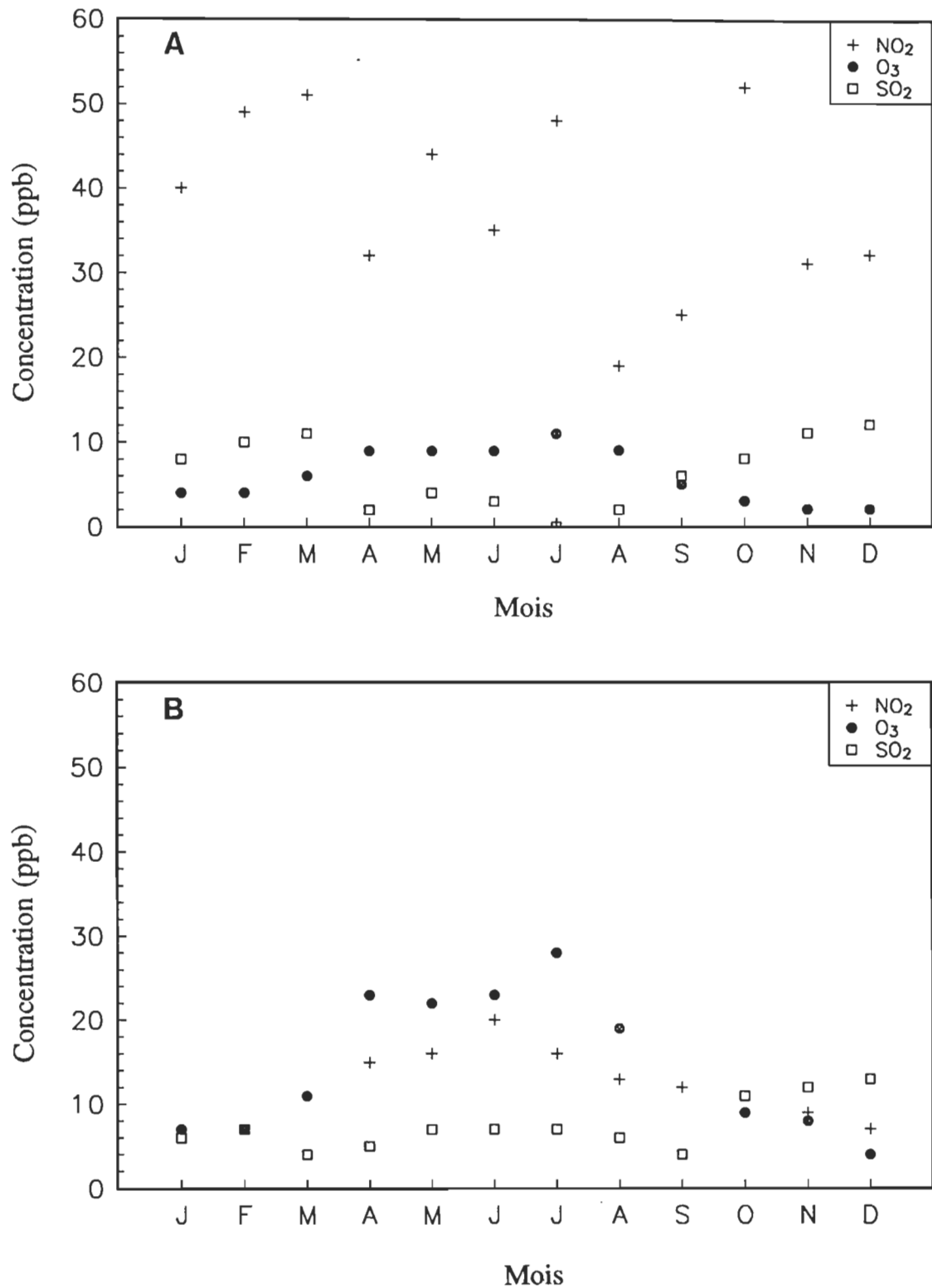


Figure 8. Abondance du bioxyde d'azote, de l'ozone et du bioxyde de soufre dans la région de la Beauce en 1987 (moyennes mensuelles)

A) station 06061, B) station 06068
(Source: Gouvernement du Québec, 1987)

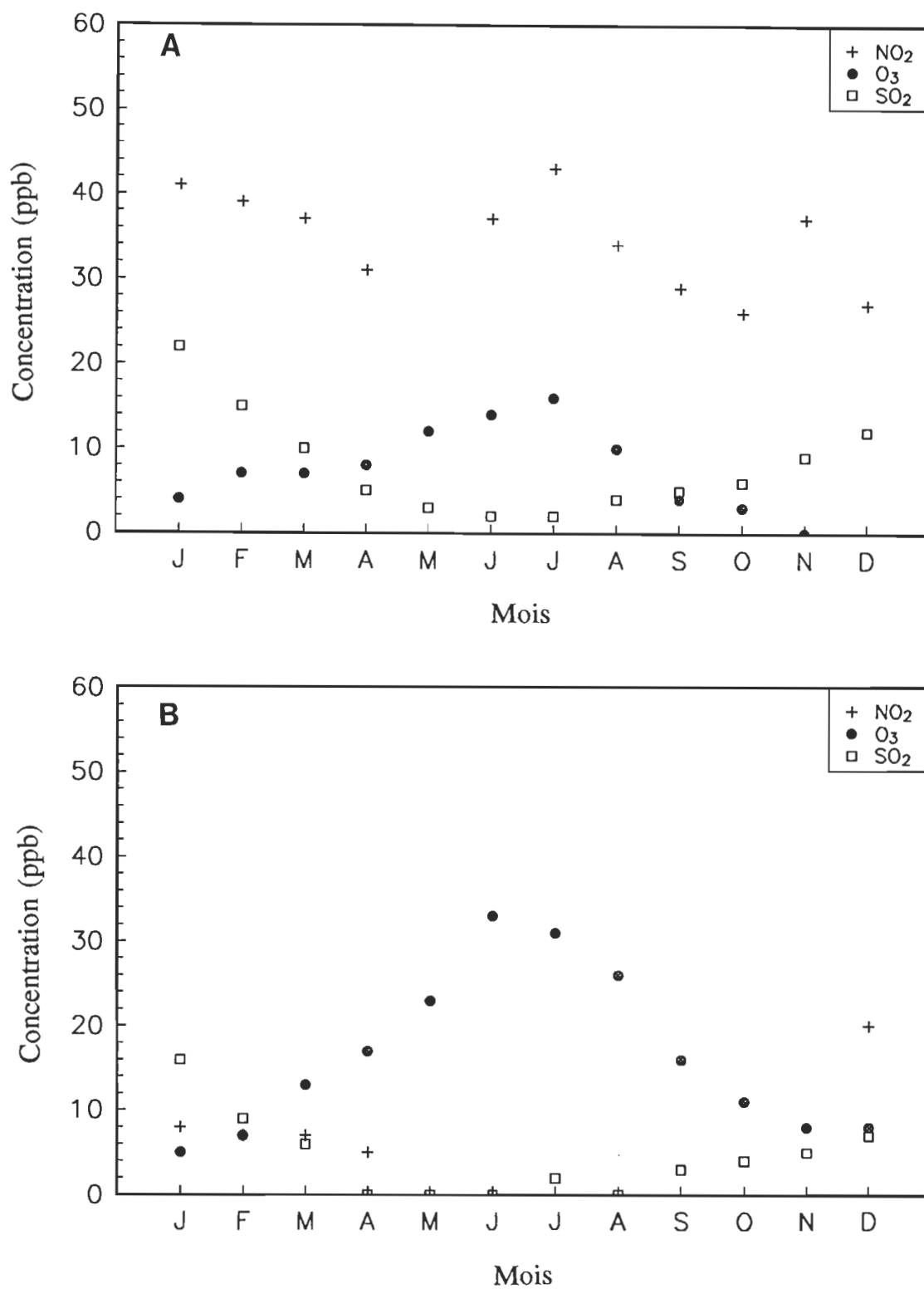


Figure 9. Abondance du bioxyde d'azote, de l'ozone et du bioxyde de soufre dans la région de la Beauce en 1988 (moyennes mensuelles)

A) station 06061, B) station 06068
(Source: Gouvernement du Québec, 1988)

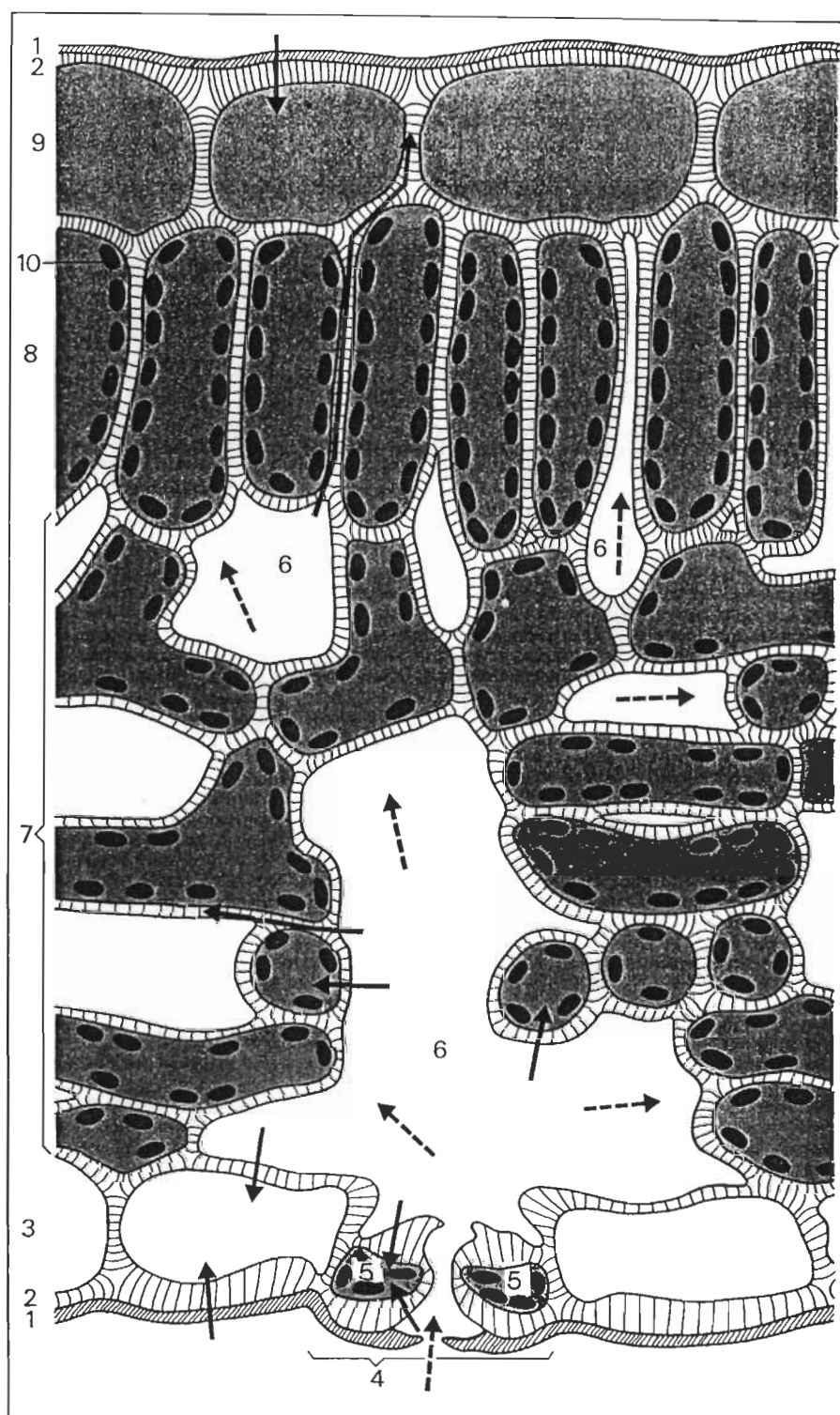


Figure 10. Schéma simplifié de l'absorption et de la distribution des polluants gazeux dans une feuille type: cas du bioxyde de soufre

1- cuticule; 2- paroi cellulaire; 3- épiderme inférieur; 4- stomate; 5- cellule de garde; 6- espace intercellulaire; 7- parenchyme lacuneux; 8- parenchyme palissadique; 9- épiderme supérieur; 10- chloroplastes. → Distribution du SO_2 gazeux; ⇢ diffusion des espèces ioniques dissoutes (H^+ , HSO_3^- , SO_3^{2-} , SO_4^{2-}). (D'après Knabe, 1976).



(constante de la réaction: $3.4 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$)(Mudd, 1975), dans la phase aqueuse de l'apoplaste entourant les cellules du parenchyme foliaire (Miszalski & Ziegler, 1989).

La production de cet acide survient également dans les précipitations et à la surface de la plante lorsque celle-ci est suffisamment humide. Il en résulte que le SO_2 peut également pénétrer à l'intérieur de la feuille en traversant la cuticule sous forme d'ions H^+ et HSO_3^- . La solubilité du SO_2 dans l'eau risque donc de créer un gradient de concentration à l'intérieur de la feuille, les plus grandes concentrations se retrouvant près des points d'entrée (stomates et cuticule).

b) Effets sur l'appareil photosynthétique: structure et fonction

Le bioxyde de soufre qui parvient jusqu'à la feuille pourra y réagir (figure 10) pour conduire à l'accumulation de divers ions (H^+ , HSO_3^- , SO_3^{2-}). Les transformations métaboliques de ces ions, qui seraient fortement influencées par la présence de lumière (Asada & Kiso, 1973; Asada, 1980), vont mener à la formation d'autres espèces chimiques. Ainsi, les ions sulfites seront oxydés principalement en ions sulfates et, à un degré moindre, en sulfide d'hydrogène (H_2S).

Une fois pénétrés dans la cellule, les ions sulfite pourront être métabolisés dans le cycle du soufre de la plante (Thomas *et al.*, 1944; Schmidt & Jäger, 1992). Ceci explique l'effet stimulateur du SO_2 sur la photosynthèse (Muller *et al.*, 1979; Winner & Mooney, 1980) ainsi que sur la croissance rapporté suite à certaines expériences de fumigation (Thomas *et al.*,

1943; Cowling & Lockyer, 1976; Lockyer & Cowling, 1981; Clarke & Murray, 1990; Murray & Wilson, 1990a). La transformation du bioxyde de soufre en sulfite fait de ce dernier un intermédiaire important dans l'expression de la phytotoxicité de ce polluant gazeux. Lorsqu'ils atteignent des concentrations élevées, les ions sulfite et sulfate deviennent toxiques pour la plante. Le potentiel réducteur de l'ion sulfite lui confère une toxicité 30 fois supérieure à celle de l'ion sulfate (Thomas *et al.*, 1943). Pour cela, il nous apparaît pertinent d'étudier le ou les mécanismes d'action de l'ion sulfite.

Il semble que la toxicité du SO_2 (induction de nécroses, réduction de la croissance et du dégagement photosynthétique d'oxygène) est plus importante lorsque la fumigation a lieu à l'obscurité (Davies, 1980; Jones & Mansfield, 1982; Olszyk & Tingey, 1984; Adams *et al.*, 1989). Cette toxicité accrue serait attribuable à l'accumulation d'ions H^+ et sulfite dans les cellules, accumulation consécutive à la réaction du SO_2 et de l'eau présent à la surface des cellules et dans le plasmalemm (Pfanzen *et al.*, 1987b). Cependant, la contribution réelle de ces deux types d'ions (hydrogène et sulfite) dans le phénomène d'inhibition n'est pas claire.

Alscher *et al.* (1987a) ont obtenu une corrélation positive entre le contenu en ions sulfites et l'inhibition de la fixation photosynthétique de CO_2 en présence de lumière. La moindre toxicité du SO_2 en présence de lumière serait attribuable à la capacité de détoxification de la plante qui serait en mesure de réduire et d'incorporer le SO_2 dans divers composés organiques ou même de le réémettre dans l'atmosphère (Sekija *et al.*, 1982; Adams *et al.*, 1989; Rennenberg *et al.*, 1990). De plus, la photooxydation des ions sulfites en ions sulfates, moins toxiques pour les cellules, contribuerait à la protection de la plante. Cependant, cette réduction entraîne la formation d'espèces réactives (OH^\cdot , SO_3^\cdot , O_2^\cdot , HSO_3^\cdot , H_2O_2) également capables d'inhiber la photosynthèse (Asada, 1980; Alscher *et al.*, 1987b) et de peroxyder divers

constituants cellulaires (Peiser *et al.*, 1982; Sandmann & Böger, 1982; Peiser & Yang, 1985; Sandmann & Gonzales, 1989)..

Il appert donc, qu'en présence de lumière, la toxicité du bioxyde de soufre implique l'ion sulfite et les espèces réactives. Le ou les sites d'action de l'ion sulfite et des espèces réactives de même que l'importance de l'inhibition qu'ils causent sur le transport photosynthétique d'électron demeurent à préciser.

Un examen de la littérature nous permet de constater que plusieurs sites d'action de l'ion sulfite ont été proposés. Par exemple, les ions sulfite produits suite à une fumigation au SO₂ inhiberaient le transport photosynthétique d'électrons (Silvius *et al.*, 1975; Shimazaki *et al.*, 1984b; Covello *et al.*, 1989), la photophosphorylation (Silvius *et al.*, 1975; Cerović *et al.*, 1982), le cycle des pentoses ou cycle de Calvin (Marques & Anderson, 1986). L'évaluation de l'importance de l'inhibition causée par cet ion et de ses mécanismes d'action sont donc d'un intérêt évident.

En quantité suffisante, le bioxyde de soufre produit un effet inhibiteur sur l'activité photosynthétique (tableau 3). Cependant, une augmentation de la photosynthèse peut survenir aux concentrations subinhibitrices. Alors que le seuil de sensibilité au bioxyde de soufre des plantes se situe entre 200 et 400 ppb, Black & Unsworth (1979) ont rapporté un seuil de 35 ppb pour la féverole (*Vicia faba* L. cv. Dylan). Sur ce point, Darrall (1989) suppose que, dû au fait que ces plantes aient été produites dans une chambre de croissance, leur sensibilité au bioxyde de soufre en serait augmentée. Suivant ce même raisonnement, il avance que des plantes ayant crû en nature manifesteraient une plus grande résistance à ce gaz. Si cette explication est juste, la comparaison entre spécimens provenant de chambres de croissance et ceux prélevés ou maintenus en nature risque d'être difficile.

Tableau 3

Sommaire des effets du bioxyde de soufre¹ sur les plantes

NIVEAU BIOCHIMIQUE	
réduction de l'activité photosynthétique comprend le transport d'électron et la fixation du CO ₂ , avec ou sans modification de la respiration mitochondriale	Paul & Bassham, 1978 Lorenc-Plucińska, 1978 Furukawa <i>et al.</i> , 1979 Shimazaki & Sugahara, 1979 Wellburn, 1982 Carlson, 1983 Shimazaki <i>et al.</i> , 1984a Sakaki & Kondo, 1985 Alscher <i>et al.</i> , 1987a Lorenc-Plucińska & Ziegler, 1989 Murray & Wilson, 1990a, b Wagner <i>et al.</i> , 1990 Wilson & Murray, 1990 Beauregard, 1991
augmentation de l'activité photosynthétique comprend le transport d'électron, la fixation du CO ₂ et la réduction du NADP	Thomas <i>et al.</i> , 1943 Libera <i>et al.</i> , 1973 Ziegler & Libera, 1975 Cowling & Lockyer, 1976 Paul & Bassham, 1978 Lockyer & Cowling, 1981 Sakaki & Kondo, 1985 Lorenc-Plucińska & Ziegler, 1989 Clarke & Murray, 1990 Murray & Wilson, 1990a, b, 1991
réduction de la synthèse d'ATP	Dumas <i>et al.</i> , 1989
peroxydation des lipides membranaires (par les espèces réactives)	Peiser <i>et al.</i> , 1982 Sandmann & Böger, 1982 Peiser & Yang, 1985 Sandmann & Gonzales, 1989
augmentation de la respiration mitochondriale	Darrall, 1991
réduction de l'activité de la fructose - 1,6 - biphosphate carboxylase	Montiel-Canobra <i>et al.</i> , 1991

¹ Ce tableau concerne également les diverses espèces ioniques associées au SO₂, tels les sulfites et les sulfates.

Tableau 3 (suite)

NIVEAU BIOCHIMIQUE (suite)	
réduction de l'activité de certains enzymes	Khan & Malhotra, 1982 Wellburn, 1982 Yamauchi <i>et al.</i> , 1983 Kato <i>et al.</i> , 1989 Pierre & Savouré, 1990
réduction de la quantité de protéines solubles	Pierre & Queiroz, 1988
réduction de la quantité de lipide	Khan & Malhotra, 1977
augmentation de la concentration en glutathione	Madamanchi & Alscher, 1991
destruction des pigments	Peiser & Yang, 1977 Shimazaki <i>et al.</i> , 1980
acidification des espaces intracellulaires, modification de l'activité des protéines, augmentation de la perméabilité de la membra- ne cytoplasmique	Lorenc-Plucińska & Ziegler, 1987b, 1988
NIVEAU PHYSIOLOGIQUE	
modification du fonctionnement des stomates	Kimmerer & Kozlowski, 1981 Atkinson & Winner, 1989 et références citées
stimulation ou inhibition du transport par le phloem (phloem loading)	Lorenc-Plucińska & Ziegler, 1987a, b Lorenc-Plucińska <i>et al.</i> , 1989
réduction des mycorrhize	Clapperton <i>et al.</i> , 1990
NIVEAU MORPHOLOGIQUE	
modification des membranes cytoplasmiques	Alebic-Juretic & Arko-Pijevac, 1989
modification structurale du PSII	Schulz <i>et al.</i> , 1990
modification des propriétés mécaniques des parois cellulaires	Mayo <i>et al.</i> , 1992

La réduction de l'assimilation du CO_2 provoquée par le SO_2 découle de son action sur le fonctionnement des stomates (Kimmerer & Kozlowski, 1981) de même que sur divers processus biochimiques (Shimazaki & Sugahara, 1979; Wellburn, 1982; Darrall, 1989). Ainsi, plusieurs auteurs ont rapporté que le SO_2 , sous forme gazeuse ou d'ions sulfite, inhibe le transport photosynthétique d'électrons et inactive certaines enzymes du cycle de Calvin (Shimazaki & Sugahara, 1979; Wellburn, 1982; Shimazaki *et al.*, 1984a).

Cependant, d'autres chercheurs ont rapporté une augmentation du transport d'électron, de la réduction du NADP et de la fixation du CO_2 chez des chloroplastes mis en présence d'ions sulfite ou chez des chloroplastes isolés à partir de feuilles exposées au SO_2 (Libera *et al.*, 1973; Ziegler & Libera, 1975).

c) Effets sur la physiologie de la plante

Contrairement à l'ozone qui ne présente aucune utilité pour la plante, le SO_2 peut contribuer positivement à l'apport en soufre de celle-ci. Sous forme réduite, le soufre est essentiel à la biosynthèse de nombreux métabolites primaires et secondaires et de certains coenzymes (Schmidt & Jäger, 1992). Sa présence est également requise sous forme oxydée pour la synthèse de sulfolipides présents dans les membranes chloroplastiques. Enfin, le soufre joue un rôle important dans la croissance de même que dans la régulation du développement de la plante (Schmidt & Jäger, 1992 et références citées).

En dépit du rôle essentiel du soufre dans le métabolisme de la plante, la présence du SO_2 dans l'atmosphère revêt un caractère phytotoxique évident. Cette toxicité s'exerce sur diverses enzymes (endoprotéases,...) ou sur certains processus physiologiques

(fonctionnement des stomates et du phloème). Dans la nature, il est fort probable que le SO_2 agit à plusieurs niveaux pour causer une réduction de la croissance et/ou du rendement.

d) Effets sur la morphologie de la plante

L'identification visuelle d'une exposition au SO_2 constitue un travail incertain étant donnée la multitude de symptômes susceptibles de mimer celle-ci (Barrett & Benedict, 1970). Tout comme dans le cas de l'ozone, la présence de chloroses et de nécroses foliaires représente une manifestation évidente de la toxicité du SO_2 pour la plante. Cependant, des modifications plus subtiles, au niveau des organites cellulaires, précèdent l'apparition des symptômes visibles à l'oeil nu (tableau 3).

e) Généralités

En présence de bioxyde de soufre, les plus jeunes feuilles ayant atteint leur pleine expansion présentent généralement la plus grande sensibilité à ce polluant. Cette sensibilité est moindre chez les feuilles plus âgées et minimale chez les feuilles en expansion (Barrett & Benedict, 1970).

Une grande variabilité dans la sensibilité au SO_2 s'observe chez les plantes annuelles en fonction de leur stade de développement (Barrett & Benedict, 1970). En plus de ces facteurs reliés à l'âge ou au stade physiologique de la plante (Pande, 1984), certains facteurs relatifs au métabolisme de la plante peuvent intervenir dans la manifestation de degré de sensibilité au polluant. Ainsi, lorsque le contenu en sucre de la feuille est bas, situation qui

prévaut le matin, la plante démontre une moins grande résistance au bioxyde de soufre (Thomas, 1961).

Pour avoir une vision plus complète des effets du bioxyde de soufre dans l'environnement, il faudrait également analyser le phénomène des dépositions acides (sèches et humides) pour lesquelles le SO_2 contribue largement (Raynal *et al.*, 1982a). Cependant, notre étude se limite aux effets de l'ozone et du bioxyde de soufre et de l'ion sulfite. Il faut néanmoins retenir que la contribution des oxydes d'azote, précurseurs de l'ozone, et celle du bioxyde de soufre à la formation des dépôts acides demeurent primordiales.

4) Action combinée

De façon générale, les plantes démontrent une sensibilité accrue lorsqu'on les expose à une combinaison de polluants. Parmi les effets observés, mentionnons une réduction du seuil de sensibilité, en comparaison avec ceux obtenus avec les polluants considérés individuellement, ainsi qu'une augmentation (synergisme) de leur pouvoir inhibiteur (Darrall, 1989). Dans ce travail, nous n'avons pas cherché à vérifier l'effet combiné de l'ozone et du bioxyde de soufre.

Il faut cependant mentionner, que dans la nature, la plante peut se voir exposée à plus d'un polluant simultanément ou en alternance. De plus, d'autres sources de stress (biotiques et abiotiques) risquent de venir moduler, en exacerbant ou en amoindrissant les effets du ou des polluants présents, et cette possibilité augmente avec la longévité de la plante. Il en va de même pour l'effet des conditions environnementales sur l'expression de la réaction de la plante (Black, 1982).

B) Le dépérissement forestier

1) Historique

Le Québec connaît depuis quelques années une détérioration appréciable de l'état de santé de ses forêts. Ainsi, entre 1978 et 1982, on signalait plusieurs cas de dépérissement dans les érablières (Roy *et al.*, 1985; Carrier, 1986). La situation n'est pas nouvelle et de nombreux autres épisodes ont été observés depuis la fin des années 20. Mentionnons ceux ayant affectés le frêne noir (*Fraxinus nigra* Marsh.) en 1927, l'érable à sucre dans la région de la Beauce, puis le bouleau blanc (*Betula papyrifera* Marsh.), le bouleau jaune (*Betula alleghaniensis* Britton) à la fin des années 30, et le hêtre à grandes feuilles (*Fagus grandifolia* Ehrh.) dans les années 40 et 50 (Pomerleau, 1944; Clark, 1961; Benoit *et al.*, 1985). Contrairement à ce que l'on observe depuis un dizaine d'années, ces épisodes étaient localisés, ils touchaient une seule ou peu d'espèces à la fois et se développaient lentement (Carrier, 1986).

Le phénomène semble remonter encore plus tôt en Ontario où plusieurs cas de dépérissement des érablières ont été rapportés depuis le début du siècle (Zabel *et al.*, 1958; Skilling, 1959, 1964; Hepting, 1960; Kessler, 1963; Hibben, 1964, 1969; Houston & Kuntz, 1964; Lacasse & Rich, 1964; Griffin, 1965; Riffle & Kuntz, 1966; Westing, 1966; Houston, 1967; Disanzo & Rohde, 1969; Rich & Walton, 1979; McGauley, 1983). Plus récemment, des cas concernant spécifiquement l'érable à sucre y ont été signalés (Canadian Forestry Service, 1980; Howse *et al.*, 1981; Kondo & Taylor, 1985; McLaughlin *et al.*, 1985; McIlveen *et al.*, 1986; Scott, 1987; Gross, 1991).

Les causes vraisemblables des épisodes rapportés avant le milieu des années 80 ont été identifiées dans la plupart des cas (tableau 4) et elles ne permettent pas de les relier au

Tableau 4

**Sommaire des causes associées au dépérissement de l'érable à sucre
en Amérique du Nord entre 1947 et 1985**

AGENT CAUSAL	ONTARIO		QUÉBEC ET É.U.		TOTAL	
	CAS	%	CAS	%	CAS	%
Conditions climatiques	12	11	8	9	20	11
Sécheresse	6	6	7	8	13	7
Chenille à tente	12	12	2	2	14	7
Autres insectes	11	11	7	8	18	10
Nématodes	0	0	5	6	5	3
Pourridié-agaric	6	6	5	6	11	6
Autres maladies	15	15	11	13	26	14
Sel	3	3	7	8	10	5
Herbicides	3	3	2	2	5	3
Précipitations acides	2	2	2	2	4	2
Pollution atmosphérique	0	0	4	5	4	2
Pratiques sylvicoles	4	4	2	2	6	3
Carences nutritives	0	0	4	5	4	2
Blessures mécaniques	4	4	1	1	5	3
Cause inconnue	19	18	10	12	29	15
Autres causes	5	5	10	12	15	8

(D'après McIlveen *et al.*, 1986)

phénomène observé actuellement dans le nord-est du continent (McIlveen *et al.*, 1986). Selon cet auteur, des cas de dépérissement relevés depuis le milieu du siècle jusqu'en 1985 en Amérique du Nord, seul un faible pourcentage (2%) a pu être relié à la pollution atmosphérique (tableau 4). Il faut cependant souligner que l'on cherchait, à cette époque, à identifier des causes uniques pour expliquer les cas de dépérissement.

Alors que diverses forêts d'Europe présentaient des symptômes évidents de perte de vitalité aussitôt qu'en 1970 (Schütt & Cowling, 1985; Anonyme, 1989), les forêts d'épinettes et de sapins situées à haute altitude seraient affectées depuis le début des années soixante aux États-Unis et en Europe centrale (Johnson & Siccama, 1984). Il appert que pour ces divers cas, le dépérissement serait attribuable à l'interaction entre plusieurs agents, dont les polluants atmosphériques (Johnson & Siccama, 1983, 1984; Blank, 1985; Rehfuss, 1987; Johnson *et al.*, 1988).

2) Importance

Le dépérissement s'observe au Québec (Lachance, 1985; McIlveen *et al.*, 1986), en Ontario (McLaughlin *et al.*, 1985; Rennie, 1986, 1987a, b; Anonyme, 1989) et dans les états du nord-est américain, plus particulièrement le Michigan, le New Hampshire, New York et le Vermont (Kessler, 1963; Siccama *et al.*, 1982; Johnson & Siccama, 1983; Vogelmann *et al.*, 1985; Allen, 1987).

Pour bien saisir l'ampleur du dépérissement qui sévit présentement, mentionnons qu'une étude effectuée en 1983 au Québec démontrait que plus de 52% des érablières présentaient des signes de dépérissement à divers degrés (Lachance, 1985). Le tableau 5 donne des

Tableau 5
Importance du dépérissement des érablières au Québec en 1983

NIVEAU ¹ DE DÉPÉRISSEMENT	ÉRABLIÈRES ÉCHANTILLONNÉES		NOMBRE MOYEN D'ÉRABLES À SUCRE PAR ÉRABLIÈRE	
	NOMBRE	%	AVEC 6% ET PLUS DE FEUILLAGE MANQUANT	MORTS
Nul (0-6%)	124	48.2	8.3	0.9
Léger (7-13%)	90	35.1	21.2	3.1
Modéré (14-20%)	28	10.9	39.1	4.6
Grave (≥ 21%)	15	5.8	45.8	10.4
Total	257	100	21.5	2.7

(D'après Lachance, 1985)

1 Il convient de signaler que le niveau et la classe de dépérissement correspondent à deux choses différentes. Le niveau donne une indication de l'abondance des arbres présentant des signes de dépérissement dans une forêt alors que la classe fait référence au pourcentage de feuillage manquant dans un arbre déterminé.

détails sur les résultats de cette étude. Le cinquième de la surface occupée par les érablières était atteint en 1981 et la progression du phénomène s'est accrue régulièrement entre 1983 et 1986 (Lachance, 1985; Bordeleau, 1986; Carrier, 1986; Gagnon *et al.*, 1986). À ce sujet, Hendershot & Jones (1989) donnent une excellente description de l'évolution et de l'étendue du dépérissement des érablières au Québec depuis 1980. En Ontario, on estimait à environ 3.5% le nombre d'arbres morts en relation avec ce phénomène (Anonyme, 1989).

Bien que l'érable à sucre constitue l'essence forestière la plus sévèrement atteinte (Roy *et al.*, 1985), d'autres feuillues telles que le bouleau jaune, l'érable rouge (*Acer rubrum* L.), le frêne blanc (*Fraxinus americana* L.), le hêtre à grandes feuilles et le tilleul d'Amérique (*Tilia americana* P. Mill.) sont également affectés (Gross, 1991). Certains de nos résineux, dont l'épinette blanche (*Picea glauca* (Moench) Voss), l'épinette de Norvège ou épicéa (*Picea abies* (L.) Karst), la pruche du Canada (*Tsuga canadensis* (L.) Carr.) et le sapin baumier (*Abies balsamea* (L.) Mill.) présentent, eux aussi, des symptômes de déclin (Têtu, 1988; Janicki & Jones, 1990-1991). Contrairement à ce qu'on observe en Europe et aux États-Unis, le dépérissement au Canada affecte principalement les essences feuillues (Carrier, 1986).

En ce qui concerne le nord-est américain et l'Europe, ce sont surtout des essences résineuses, telles que l'épinette rouge dans le nord des États-Unis, l'épinette de Norvège et le sapin pectiné (*Abies alba* Mill.) en Europe, qui présentaient des signes de déclin lors des premières observations de dépérissement (Bouvarel, 1984; van Doren, 1986). Plusieurs espèces de feuillus, tels que les frênes, les érables, les chênes et les hêtres semblent maintenant affectées à divers degrés (Becker & Lévy, 1982, 1983; Durant *et al.*, 1983; Guillaumin *et al.*, 1983; Groene, 1985; Schütt & Cowling, 1985; Bonneau, 1986; Anonyme, 1989). Par son étendue, son évolution et le nombre d'espèces qu'il frappe, le dépérissement suscite un intérêt sans précédent comme en témoigne l'abondante littérature sur le sujet.

3) Symptômes

Chez les feuillus, et plus particulièrement chez l'érable à sucre, le dépérissement se manifeste par l'apparition de feuilles petites, souvent naines, et pâles avec des nécroses interveinales, des chloroses et brûlures marginales. Les feuilles ont d'ailleurs tendance à se colorer et tomber précocement à l'automne. De plus, il est possible d'observer une perte graduelle des feuilles qui se manifeste dans le pourtour de la cime. À cela s'ajoute le dessèchement progressif puis la mort des ramilles et des jeunes branches de l'extérieur vers l'intérieur du houppier et la mort des bourgeons.

L'apparition de rameaux adventifs¹ (Griffin, 1965; McIlveen *et al.*, 1986) et le décollement de l'écorce sur les branches et sur le tronc ont également été signalés. Une réduction de la croissance foliaire et du tronc (Roy *et al.*, 1985; Gross, 1991), de même que des réserves amylacées (McIlveen *et al.*, 1986) peuvent être observées.

4) Causes probables

Malgré l'évidence du problème, l'identification de la (des) cause(s) exacte(s) du dépérissement ne fait pas l'unanimité. À ce sujet, l'approche la plus intéressante est sans doute celle proposée par Manion (1981). Selon cet auteur, il faut considérer la mort d'un arbre comme un processus multifactoriel ce qui l'a conduit à nous proposer un modèle connu sous le nom de la spirale de la mort d'un arbre. Selon ce modèle, il serait possible de classer les divers facteurs de stress, tant abiotiques que biotiques, selon leur incidence sur l'état de santé

1 Adventif: se dit d'un organe qui apparaît à un endroit inhabituel.

et éventuellement la mort de l'arbre. Ainsi, des facteurs prédisposeraient la plante alors que d'autres en déclencherait le dépérissement. Finalement, d'autres facteurs seraient en mesure d'en aggraver l'expression. Examinons le cas de l'érable à sucre.

Les modifications chimiques induites par la défoliation de l'érable à sucre favoriseraient la croissance du pourridié-agaric ou armillaire (*Armillaria mellea* (Vahl. ex Fr.) Kumm.) (Parker & Houston, 1971; Wargo, 1972; Wargo *et al.*, 1972; Wargo & Houston, 1974; Houston, 1981; Wargo, 1981). La présence de cet organisme responsable de la carie des racines contribuerait au dépérissement (Davidson & Paradis, 1978; Roy *et al.*, 1985).

Dans ce même ordre d'idées, une mauvaise pratique sylvicole, comme la coupe sélective dans les érablières en exploitation, pourrait accentuer le processus de dépérissement (Roy *et al.*, 1985). La pollution atmosphérique, et plus particulièrement l'ozone, pourrait prédisposer les arbres à l'action d'autres agents naturels tels les sécheresses estivales puis le gel et la dessiccation hivernales (Friedland *et al.*, 1984; McLaughlin, 1985; Brown *et al.*, 1987; Barnes & Davison, 1988; Lucas *et al.*, 1988). À ce sujet, Lachance (1985) propose que les écarts climatiques seraient le principal facteur de déclenchement du dépérissement de cette espèce au Québec. De plus, la défoliation ralentirait la cicatrisation chez l'érable (Wargo, 1977). L'attaque par les insectes a déjà été identifiée comme facteur de déclenchement du dépérissement chez l'érable à sucre (McIlveen *et al.*, 1986).

Les dépôts acides, dans le cas du dépérissement des érablières en Ontario, constituent un bon exemple de facteur d'aggravation (McIlveen *et al.*, 1986). Dans ce cas particulier, le pourridié-agaric, l'âge de l'arbre et la pratique sylvicole constitueraient des facteurs de prédisposition, alors que les nématodes, les déficiences nutritives et les polluants atmosphériques constitueraient des facteurs aggravants (McIlveen *et al.*, 1986). De plus,

Griffin (1965) a proposé que des conditions environnementales adverses seraient d'importants facteurs ayant contribué aux épisodes de dépérissement de l'érable à sucre rapportés en Ontario au début des années 50. Nous pouvons donc constater que plusieurs facteurs ont été retenus ou identifiés dans le cas du dépérissement des érables.

Dessureault (1983) propose les facteurs suivants dans le cas particulier des érablières du sud du Québec:

1- facteurs de prédisposition: la nature du site, l'aménagement, l'exploitation, la diminution de la fertilité des sols causée par les pluies acides ou la pollution;

2- facteurs provocateurs: les épidémies d'insectes défoliateurs, les périodes de gel-dégel, la sécheresse;

3- facteurs d'aggravation: le pourridié-agaric (armillaire), le perceur de l'érable (*Glycobius speciosus* Sarg.) également retenu par Bauce & Douglas (1992), les virus.

La contribution de certains de ces facteurs, comme l'appauvrissement du sol, le mauvais drainage et l'attaque par la livrée des forêts (*Malacosoma disstria* Hbn.), dans le dépérissement des érablières au Québec a été retenue par Roy *et al.* (1985). Selon cet auteur, les résultats des études obtenus jusqu'à 1985 témoigneraient de la complexité du dépérissement de l'érable à sucre.

En dépit du manque d'informations sur l'importance relative des divers facteurs impliqués, il semble évident que le dépérissement résulte des effets cumulatifs de l'interaction entre plusieurs facteurs (Roy *et al.*, 1985). L'épisode de dépérissement des années 70 qu'a subi l'Ontario impliquerait une épidémie sévère de chenilles à tente (livrée des forêts) combinée aux sécheresses printanières de 1976, 1979 et 1983 comme facteurs de déclenchement (Scott, 1987).

Nous avons souligné le potentiel phytotoxique de l'ozone et du bioxyde de soufre. L'abondance relative de l'ozone dans le sud du Québec, où se manifeste le dépérissement de l'érable à sucre, justifie qu'on examine la résistance de cette espèce à ce polluant gazeux. L'activité photosynthétique des plantes est particulièrement sensible aux variations des facteurs environnementaux. Dans certaines conditions, elle constitue un bon indicateur de l'effet des polluants. Puisque la SPA permet la détermination de cette activité, nous devrions être en mesure d'évaluer la sensibilité à l'ozone de l'érable à sucre. Les résultats obtenus pourront servir d'indicateur de l'importance potentielle de l'ozone dans le dépérissement de l'érable à sucre. Il serait cependant imprudent d'extrapoler sans aucune réserve nos résultats au problème du déclin de cette espèce puisque nos expériences ne tiennent pas compte de l'ensemble des facteurs abiotiques et biotiques qui peuvent venir modifier l'effet du polluant étudié.

CHAPITRE IV

SPECTROSCOPIE PHOTOACOUSTIQUE

A) Généralités

1) Rappel historique

Nous vous référons aux ouvrages de Rosencwaig (1980a, b) et de Pao (voir Rosencwaig, 1977), qui traitent en profondeur de l'histoire de la SPA. Il convient cependant de rappeler certains points importants qui devraient permettre au lecteur de mieux situer la SPA dans son contexte historique.

Nous devons à Alexander Graham Bell (Bell, 1880) la première description d'une expérience mettant en pratique l'effet photoacoustique (appelé à cette époque effet optoacoustique). Bien que la connaissance de cet effet soit plus que centenaire, son application pour des fins analytiques a connu une certaine stagnation imposée par les limitations dans la performance des sources d'excitation (lampes), des systèmes de détection (microphones et autres) et d'amplification. Les progrès importants dans le domaine de l'électronique vers la fin des années 60 allaient permettre le début réel de la SPA en tant que technique d'analyse.

D'abord utilisée pour l'analyse des gaz (Kreuzer & Patel, 1971), la SPA connu par la suite de nombreuses applications, comme la détermination des propriétés optiques et thermiques des liquides et des solides (Harshbarger & Robin, 1973; Rosencwaig, 1973a, b,

1975a, b, 1977, 1978; Somoano, 1978; Coufal, 1986; Tam, 1986; Sawada & Kitamori, 1988; Sunandana, 1988). La technique fut éventuellement utilisée pour étudier des spécimens biologiques d'origine animal ou végétal.

2) Principe de base

L'effet photoacoustique repose sur un principe de base simple: tout corps ou toute substance qui absorbe de l'énergie lumineuse en restitue une fraction variable sous forme de chaleur. Le phénomène PA ne se limite pas à l'absorption de la lumière visible mais touche une large portion du spectre électromagnétique.

Pour une bonne compréhension des applications de la SPA dans l'analyse de la photosynthèse, considérons l'exemple de la chlorophylle. Lorsqu'une telle molécule n'absorbe aucune lumière, ses électrons demeurent à leur niveau de moindre énergie ou état fondamental singulet S_0 . Cependant, suite à l'absorption d'énergie lumineuse, un électron de la molécule passera à un niveau énergétique supérieur (S_1 , S_2 ,...) selon la longueur d'onde de la lumière d'excitation. Les courtes longueurs d'onde, plus énergétiques que les longues, provoquent des transitions vers les niveaux plus élevés. L'énergie ainsi gagnée par l'électron sera dissipée selon l'un des mécanismes illustrés de façon simplifiée à la figure 11.

Bien que la conversion en chaleur¹ de l'énergie lumineuse absorbée s'effectue rapidement ($\approx 10^{-12}$ s), d'autres mécanismes dissipateurs peuvent intervenir et ainsi faire varier l'importance des émissions non-radiatives (chaleur). Ces mécanismes compétiteurs peuvent

1 Voir le traitement du bilan thermique de la feuille en fin de chapitre.

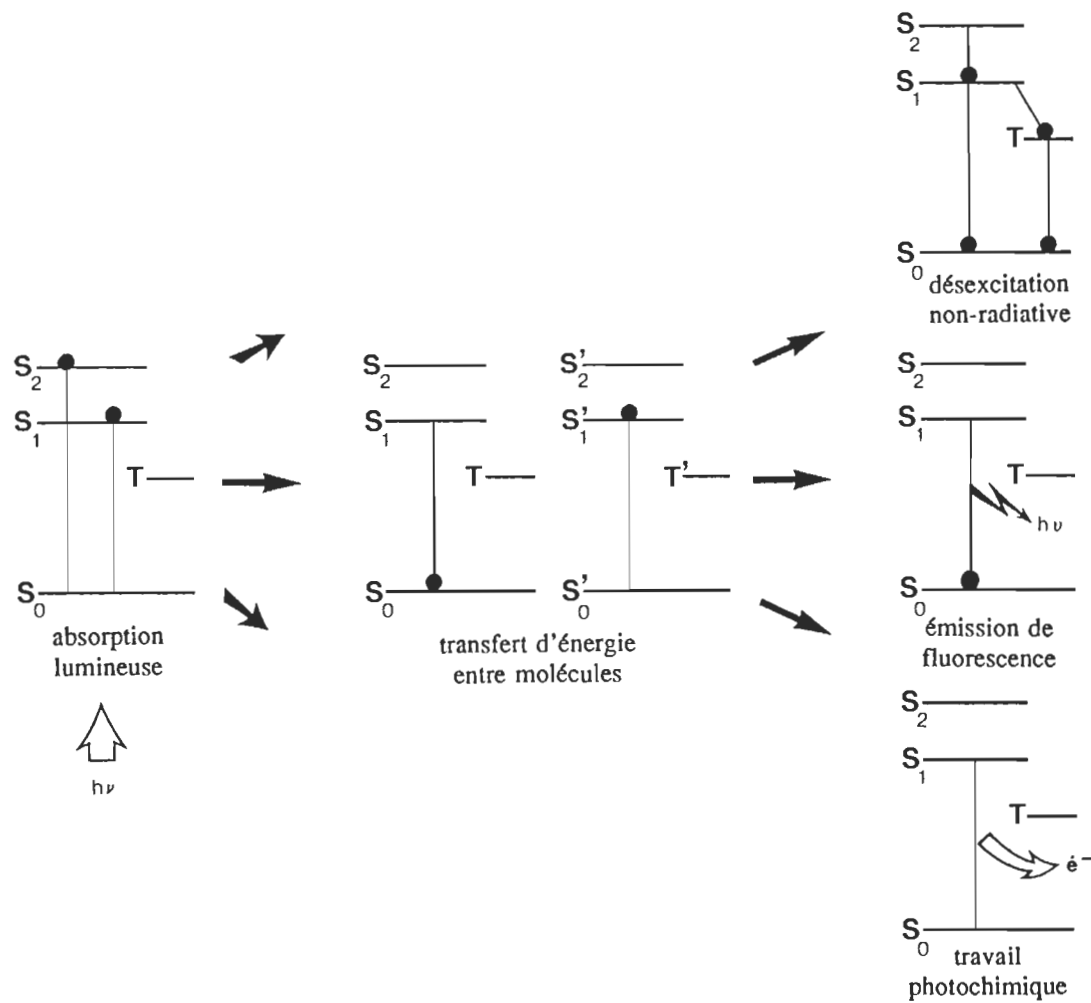


Figure 11. Mécanismes de désexcitation d'une molécule de chlorophylle: cas général

e^- : électron; h : constante de Planck; S : état singulet; T : état triplet; ν : fréquence.

être divisés en deux grandes catégories: la luminescence et les réactions photochimiques. La luminescence comprend les mécanismes par lesquelles l'énergie est dissipée par la production de lumière (émission de photons) de longueur d'onde supérieure à celle de la lumière absorbée. Ceci comprend la fluorescence et la phosphorescence. Alors que la fluorescence disparaît de façon instantanée après l'extinction de la source d'excitation, la phosphorescence, quant à elle, peut persister plusieurs secondes après celle-ci et démontre, dans ce cas, une dépendance vis-à-vis de la température.

Par réactions photochimiques, nous entendons l'ensemble des processus physico-chimiques qui tirent leur énergie de la lumière (photoconduction, photosynthèse, vision,...). Le travail photochimique représente très certainement la conséquence la plus intéressante de l'absorption lumineuse.

3) Cas des organismes photosynthétiques

Poursuivons notre description du principe de base de la SPA en portant une attention spéciale au cas des organismes photosynthétiques. Notre connaissance de la morphologie de la feuille, tant au niveau macroscopique que microscopique, va nous permettre d'examiner plus en détails l'application de la SPA au cas de cet organe.

Pour nos besoins, il suffit de mentionner que la lumière reçue par la feuille est partiellement absorbée par des complexes collecteurs de lumière dont la fonction principale est de transférer l'énergie à une paire spéciale de molécules de chlorophylle situées dans les centres réactionnels. Ce mécanisme de transfert d'énergie demeure essentiel au fonctionnement normal de la photosynthèse. L'énergie lumineuse absorbée par les pigments du CCL n'est pas

utilisée mais simplement transférée vers les centres réactionnels où le travail photochimique aura lieu. Ce point est illustré à la figure 11. Une fois l'énergie transférée, la molécule de chlorophylle du CCL ou du centre réactionnel retourne à son état fondamental.

Chez les organismes photosynthétiques, la fluorescence représente la seule source universelle de luminescence. Les 'pertes' énergétiques causées par ce mécanisme ne dépassent guère 5.0% (Bults *et al.*, 1982b; Krause & Weiss, 1988). En SPA, il est d'usage de négliger la contribution de la fluorescence dans le bilan énergétique (Bults *et al.*, 1982b; Havaux, 1992).

Sachant que le transfert d'énergie ne constitue pas une forme d'utilisation à proprement parler, le schéma de la figure 11 peut être simplifié de la façon suivante (figure 12). Ce qu'il importe de retenir de ce schéma est l'interrelation entre les trois modes de désexcitation. Ainsi, pour une quantité déterminée d'énergie absorbée, une variation de l'un ou l'autre des modes va se répercuter sur les deux autres (figure 12, doubles flèches).

Puisque nous nous intéressons à déterminer l'activité photosynthétique et que nous négligeons la fluorescence, il ressort qu'une variation de la photosynthèse va affecter la quantité de chaleur produite par le spécimen sous analyse. Il suffit donc, en théorie, de mesurer cette chaleur pour évaluer l'efficacité photosynthétique de l'échantillon et la SPA permet de telles mesures. Voyons ce qu'il en est.

B) Aspect théorique

Un corps soumis à une source de radiations réémet, sous forme de chaleur, une fraction de l'énergie absorbée. Si nous modulons la lumière excitatrice, au moyen d'un secteur

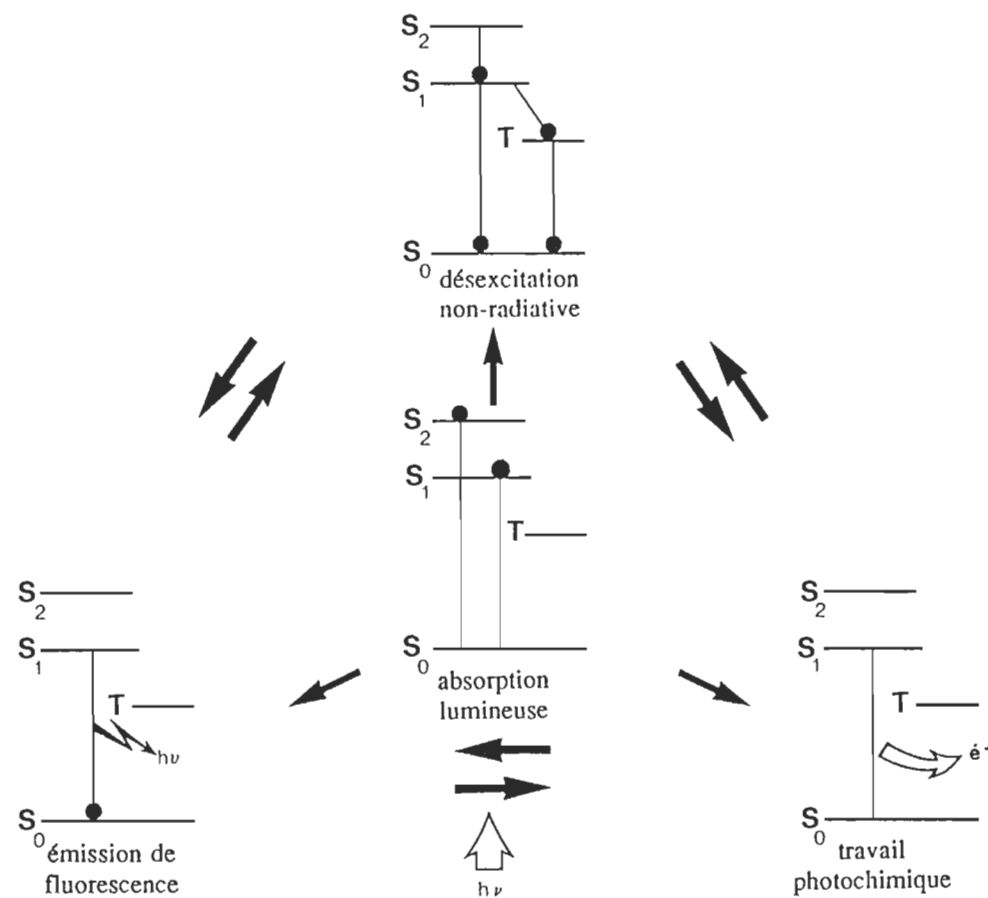


Figure 12. Mécanismes de désexcitation d'une molécule de chlorophylle: mécanismes considérés en spectroscopie photoacoustique

e^- : électron; h : constante de Planck; S : état singulet; T : état triplet; ν : fréquence.

circulaire tournant par exemple, l'absorption lumineuse et sa conversion en chaleur se feront également à la fréquence de modulation. Si l'échantillon est enfermé dans une enceinte close de volume constant, l'échauffement qu'il subit diffusera jusqu'à sa surface où la chaleur sera transférée au gaz avoisinant. Ce gaz présentera des variations localisées de volume à la fréquence de modulation. Le volume de l'enceinte étant constant, des variations de pression résulteront de cet échauffement du gaz.

En modulant la lumière excitatrice dans le domaine des fréquences audibles (≈ 20 Hz à 20 kHz), un signal acoustique sera généré dans l'enceinte (cellule PA) qu'un microphone¹ convenablement localisé pourra détecter. Il s'agit donc d'une détection indirecte qui dépend:

- 1- de l'énergie absorbée par l'échantillon, fonction de l'absorptivité de ce dernier, de ses propriétés optiques ainsi que de l'énergie des photons absorbés et de leur nombre (longueur d'onde et intensité de la lumière excitatrice);
- 2- de l'efficacité de la conversion non-radiative (rappelez-vous que d'autres processus peuvent compétitionner pour l'utilisation de la lumière absorbée);
- 3- des propriétés thermiques de l'échantillon qui vont déterminer l'efficacité du transfert de la chaleur;
- 4- des propriétés thermiques du gaz de couplage (celui présent dans l'enceinte);
- et 5- des caractéristiques acoustiques de la cellule PA (enceinte et microphone) et électroniques des autres composantes (microphone et système d'amplification).

L'amplitude (Q) du signal PA peut donc être représenté selon l'équation 1:

$$Q \propto k_i \cdot (E_{\lambda, I} \cdot e_{cnr} \cdot e_{tt}) \quad (1)$$

où k_i représente une constante instrumentale (point 5 du paragraphe précédent); $E_{\lambda, I}$ correspond à l'énergie quantique absorbée (point 1); e_{cnr} désigne l'efficacité de la conversion non-radiative

1 D'autres méthodes de détection peuvent être utilisées en SPA et avec des techniques apparentées. Coufal (1986) donne une excellente revue sur le sujet.

(point 2); et finalement, e_{it} regroupe l'efficacité du transfert thermique de l'échantillon et du gaz de couplage (points 3 et 4).

L'approche purement descriptive de l'effet photoacoustique que nous venons d'utiliser sert essentiellement à illustrer le phénomène de génération du signal, depuis l'absorption lumineuse jusqu'aux variations de pression dans la cellule PA. L'effet photoacoustique peut également être abordé de manière quantitative. Dans cette optique, un certain nombre de modèles a été proposé afin de l'expliquer.

1) Théorie de Rosencwaig et Gersho

Les premiers modèles proposés pour expliquer l'effet PA remontent au début des années 70 (Parker, 1973; Rosencwaig, 1973a). En 1976, Rosencwaig et Gersho proposèrent une théorie pour expliquer l'effet acoustique dans les solides (homogènes). Cette théorie semble la plus utilisée et les théories plus récentes y font généralement références (Cesar *et al.*, 1979; Fernelius, 1980; Santos & Miranda, 1980).

Selon le modèle proposé par Rosencwaig et Gersho (modèle ou théorie RG), une section longitudinale d'une cellule PA peut être représentée telle qu'illustrée à la figure 13. Sur cette figure, l_s^1 , l_e , l_g et l_f représentent l'épaisseur du support, de l'échantillon, du gaz de couplage et de la fenêtre, respectivement. Cette théorie considère une propagation unidimen-

1 Par soucis d'utiliser une terminologie cohérente avec la langue de cette thèse, nous avons adopté des indices descriptifs des noms français correspondants. Puisque la très grande majorité des articles sur les aspects théoriques de la SPA sont en anglais, voici une liste des équivalences: support = backing material, échantillon = sample, gaz = gas, fenêtre = window. Le lecteur devra donc porter attention afin de ne pas confondre les paramètres relatifs au support avec ceux relatifs à l'échantillon (sample).

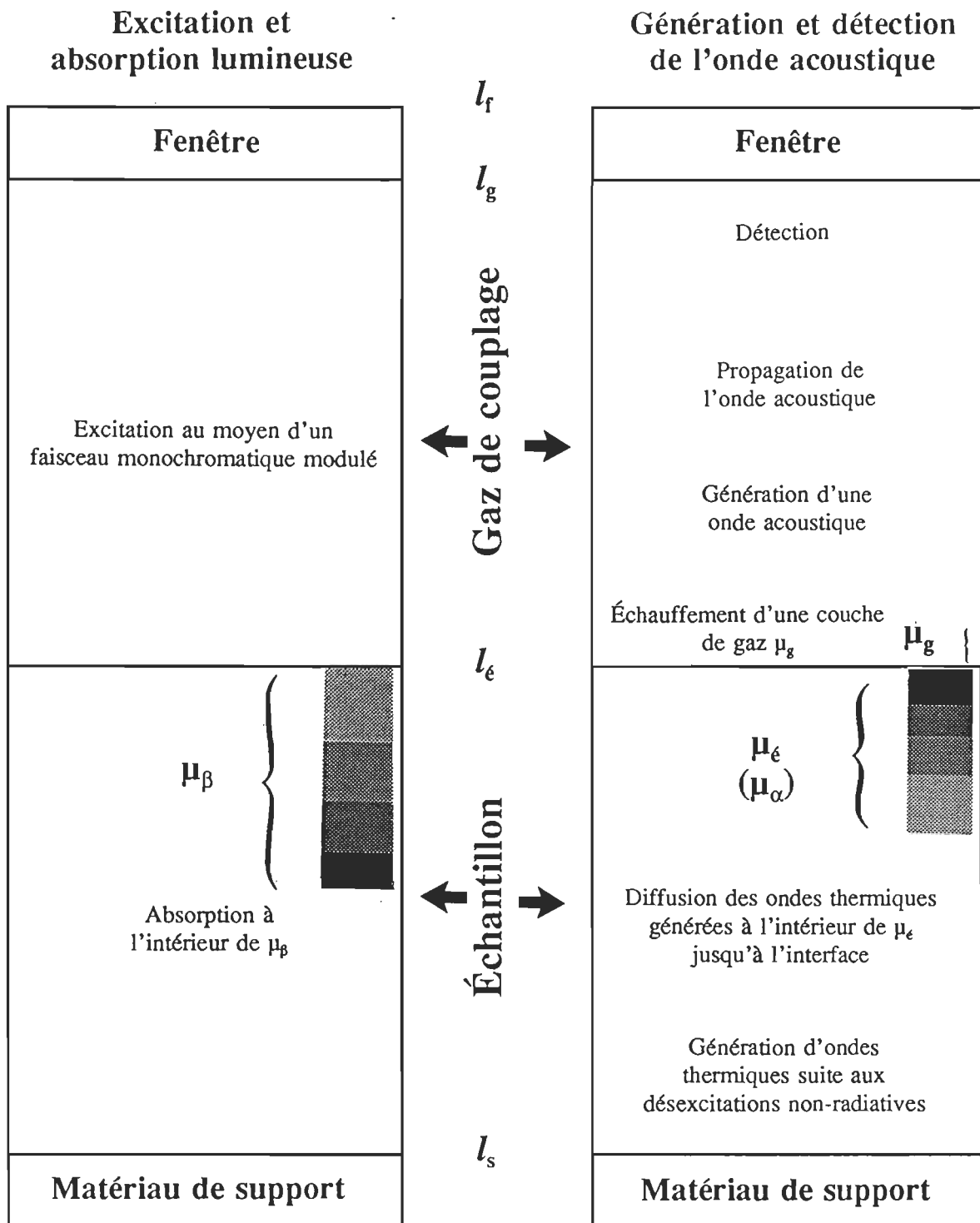


Figure 13. La cellule photoacoustique: aspect théorique

Les abréviations sont expliquées dans le texte.
(Modifié de Charland, 1993)

sionnelle du flux de chaleur dans le système (support, échantillon et gaz) ainsi que des propriétés thermiques du matériau indépendantes de la position et de la température.

La résolution des équations de conduction de la chaleur (propagation de l'onde thermique) dans les divers éléments du système permet de déterminer la température à l'interface échantillon-gaz. C'est à ce niveau que le transfert de chaleur, de l'échantillon au gaz, va s'effectuer pour générer le signal acoustique à proprement parler.

Pour la compréhension du lecteur, revenons à l'équation 1 où l'amplitude du signal PA dépend de l'énergie lumineuse absorbée par l'échantillon à l'intérieur d'une zone appelée la longueur d'absorption ou de pénétration optique, μ_β [m]¹ (premier terme entre parenthèses). La longueur d'absorption optique correspond à l'inverse du coefficient d'absorption optique, β [m⁻¹], de l'échantillon. L'équation 2 décrit cette relation.

$$\mu_\beta = \frac{1}{\beta} = \frac{1}{2.3 \cdot \epsilon \cdot C_c} \quad (2)$$

Selon l'équation 2, nous pouvons constater que la loi de Beer-Lambert permet de relier la longueur d'absorption optique, μ_β , à l'absorptivité molaire, ϵ [M⁻¹·m⁻¹] de l'échantillon, de même qu'à la concentration molaire, C_c [M], du ou des chromophores absorbant à la longueur d'onde d'excitation. Cette dépendance du μ_β , vis-à-vis C_c , est à la base de notre tentative de quantification des pigments foliaires au moyen de la SPA. Le contexte, la démarche, les résultats et leur interprétation sont présentés à l'annexe III.

La longueur d'absorption optique correspond à l'épaisseur (ou profondeur) à laquelle l'intensité de la radiation n'est plus que de 1/e ($e \approx 2.718$) celle du faisceau incident. Cette longueur dépend d'une propriété optique importante de l'échantillon: son opacité. Dans les

1 Les crochets [] indiquent les unités du paramètre concerné.

corps opaques ou semi-transparents, $\mu_\beta < l_e$, ce qui, du point de vue photoacoustique, résulte en une saturation optique qui se traduit par une distorsion spectrale.

Ce point revêt une grande importance pour ceux qui désirent utiliser cette technique afin de déterminer les propriétés spectrales d'un échantillon ou pour obtenir un profil de profondeur. Une variation de la fréquence de modulation (f) suffit pour varier la longueur de diffusion thermique (μ_e) de l'échantillon et contourner ce problème (voir les équations 8 et 9).

Le deuxième terme entre parenthèses de l'équation 1 fait référence à l'efficacité des conversions non-radiatives au sein de l'échantillon. La figure 12 met en évidence les interactions qui existent entre les émissions non-radiatives, la fluorescence et le travail photochimique dans le cas des feuilles et des autres organismes photosynthétiques. Nous pouvons également exprimer ces interactions sous forme d'une équation:

$$E_{\text{absorbée}} = E_{\text{chaleur}} + E_{\text{fluorescence}} + E_{\text{photochimie}} \quad (3)$$

Cette équation ne tient pas compte du transfert d'énergie pour les raisons citées plus haut. De plus, seule la fluorescence est considérée parmi les processus de luminescence. Ce mécanisme de désexcitation peut également être négligé de sorte que nous pouvons simplifier le bilan énergétique de la feuille qui prend alors la forme de l'équation 4.

$$E_{\text{absorbée}} = E_{\text{chaleur}} + E_{\text{photochimie}} \quad (4)$$

En remplaçant $E_{\text{photochimie}}$ par $E_{\text{photosynthèse}}$, l'équation 5 nous fait voir avec quelle simplicité la SPA permet la détection et la quantification de l'activité photosynthétique.

$$E_{\text{photosynthèse}} = E_{\text{absorbée}} - E_{\text{chaleur}} \quad (5)$$

Le troisième et dernier terme entre parenthèses de l'équation 1, l'efficacité du transfert thermique, va déterminer la quantité de chaleur produite qui, en diffusant à la surface de l'échantillon, va contribuer à la génération de l'onde acoustique. Sur ce point, mentionnons que la propagation de l'onde thermique dans l'échantillon produit une variation de température

dans une mince couche de gaz située à sa surface. Il en résulte une variation périodique de l'épaisseur de cette couche qui agira, tel un piston, sur le reste de la colonne de gaz. Éventuellement, l'onde acoustique ainsi produite atteindra le microphone relié à la cellule pour générer le signal PA (figure 13).

L'expression de l'onde thermique dans l'échantillon peut être décrite de la façon suivante (Rosencwaig & Gersho, 1976):

$$\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} - \frac{1}{\alpha_e} \cdot \frac{\partial T}{\partial t} = 0 \quad (6)$$

où T représente la température [K]; x , la position [m]; t , le temps [s] et α_e , la diffusivité thermique de l'échantillon [$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$]. Cette expression du flux thermique unidirectionnel suppose l'indépendance des propriétés thermiques du matériau vis-à-vis de la température et de la position. Le paramètre α_e est décrit par l'équation 7.

$$\alpha_e = \frac{k_e}{\rho_e \cdot C_e} \quad (7)$$

où k_e est la conductivité thermique [$\text{J} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$]; ρ_e , la masse volumique [$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$] et C_e , la capacité calorifique [$\text{J} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$], l'indice e faisant référence à l'échantillon.

Avec le matériel non-biologique, la valeur de chacun de ces paramètres peut être déterminée expérimentalement ou retrouvée dans la littérature. Cependant, très peu de données existent sur le matériel biologique de sorte qu'on doit, le plus souvent, s'en remettre à une valeur approximative de la diffusivité thermique obtenue dans les ouvrages spécialisés. La référence la plus utilisée à ce sujet demeure l'ouvrage de Touloukian *et al.* (1973).

Le nombre d'échantillons biologiques pour lesquels nous connaissons la diffusivité thermique s'avère extrêmement restreint de sorte que plusieurs auteurs (Inoue *et al.*, 1979;

Helander *et al.*, 1981; Malkin *et al.*, 1981a, b) approximent la valeur de la conductivité thermique de leur spécimen en utilisant celle de l'eau ($0.00146 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$).

La valeur de la diffusivité thermique nous permet de déterminer un autre paramètre important: la longueur de diffusion thermique de l'échantillon, μ_ℓ (souvent désignée par μ_α), qui s'exprime selon la relation:

$$\mu_\ell = \frac{1}{\alpha_\ell} = \sqrt{\frac{2 \cdot \alpha_\ell}{\omega}} \quad (8)$$

où ω représente la fréquence angulaire [$\text{rad} \cdot \text{s}^{-1}$] qui se définit comme suit:

$$\omega = 2 \cdot \pi \cdot f \quad (9)$$

f étant la fréquence de modulation [Hz].

L'épaisseur de la couche de gaz produisant l'effet de piston est directement liée à sa longueur de diffusion thermique¹ μ_g . Celle-ci détermine l'épaisseur de la couche-frontière selon l'équation 8. Dans ce cas, il faut considérer les caractéristiques du gaz (α_g , k_g , ρ_g et C_g) au lieu de celles de l'échantillon. Cette couche est relativement mince puisque l'amplitude de la composante périodique du vecteur thermique du gaz subit une atténuation importante dans le reste de la colonne. En fait, à une distance égale à $2\pi\mu_g$ de l'interface échantillon-gaz, cette amplitude n'est plus que 2×10^{-3} fois sa valeur à l'interface (Renard & Lion, 1982).

Pour satisfaire au modèle RG, l'épaisseur de la colonne doit être nettement supérieure à la longueur de diffusion thermique dans ce gaz. À titre d'exemple, Mac Donald & Wetsel (1978) ont déterminé qu'à une fréquence de modulation de 10 Hz, cette distance de

¹ La longueur de diffusion thermique représente la distance où l'augmentation de la température attribuable à la conduction de la chaleur atteint e⁻¹ celle à la source, c'est-à-dire l'interface échantillon-gaz.

$2\pi\mu_g$ atteignait 5.2 mm lorsque l'air constitue le gaz de couplage. Les dimensions minimales des cellules PA doivent tenir compte de cette condition.

Le sens physique de la longueur de diffusion thermique se résume à l'épaisseur de l'échantillon dans laquelle l'onde thermique va contribuer à la génération de l'onde acoustique, donc au signal PA à proprement parler, durant un cycle d'exposition à la source excitatrice. La littérature fait part de deux approximations pour exprimer cette valeur. La première, proposée par Rosencwaig & Gersho (1976), vaut $2\pi\mu_e$. Malkin & Cahen (1979) prétendent que cette valeur serait nettement exagérée. Ces auteurs croient plutôt que l'épaisseur de la couche contribuant au signal PA serait mieux approximée par la relation $\mu_e/\sqrt{2}$.

L'amplitude du signal sera déterminée en grande partie par l'intensité et la longueur d'onde de la lumière excitatrice, donc l'énergie des photons absorbés par l'échantillon. Puisque l'évaluation de la quantité de chaleur produite se fait de façon indirecte, par la détection de l'onde acoustique, un certain retard existe entre l'absorption de la lumière d'excitation et la détection du signal PA. Ce retard se traduit par un déphasage qu'un amplificateur à verrouillage de phase détermine à partir d'un signal de référence en provenance du modulateur. Le signal comprend donc deux composantes: le module (ou amplitude) et la phase.

Le calcul de l'amplitude et de la phase demeure fort complexe et de ce fait d'exploitation limitée (Renard & Lion, 1982). Dans le but de simplifier leur modèle, Rosencwaig & Gersho (1976) ont proposé six cas limites qui tiennent compte des propriétés optiques et thermiques de l'échantillon. Dans un premier temps, ils ont fait la distinction entre les matériaux optiquement transparents ($\mu_p > l_e$) et ceux optiquement opaques ($\mu_p \leq l_e$). Puis, ils ont considéré la longueur de diffusion thermique μ_e de l'échantillon qu'ils ont comparé à la longueur d'absorption optique (μ_p). Les six cas limites sont présentés à la figure 14.

Solides optiquement transparents $\mu_\beta > l_\epsilon$			Solides optiquement opaques $\mu_\beta < l_\epsilon$		
thermiquement minces $\mu_\epsilon > l_\epsilon ; \mu_\epsilon > \mu_\beta$	thermiquement minces $\mu_\epsilon > l_\epsilon ; \mu_\epsilon < \mu_\beta$	thermiquement épais $\mu_\epsilon < l_\epsilon ; \mu_\epsilon < \mu_\beta$	thermiquement minces $\mu_\epsilon > l_\epsilon ; \mu_\epsilon > \mu_\beta$	thermiquement épais $\mu_\epsilon < l_\epsilon ; \mu_\epsilon > \mu_\beta$	thermiquement épais $\mu_\epsilon < l_\epsilon ; \mu_\epsilon < \mu_\beta$
1- βl_ϵ 2- ω^{-1}	βl_ϵ ω^{-1}	$\beta \mu_\epsilon$ $\omega^{-3/2}$	indépendant de β ω^{-1}	indépendant de β ω^{-1}	μ_ϵ $\omega^{-3/2}$

Figure 14. Les 6 cas limites dérivés de la théorie de Rosencwaig & Gersho

1- relation de proportionnalité du signal PA; 2- dépendance du signal PA vis-à-vis ω . La flèche a indique la direction du faisceau incident; la flèche b origine à μ_ϵ ; la flèche c se termine à μ_β ; la flèche d origine au point limite de contribution de l'échantillon. (D'après Rosencwaig & Gersho, 1976)

Dans le cas des matériaux opaques ($\mu_\beta \ll l_e$) comme la feuille, signalons l'indépendance du signal PA vis-à-vis du coefficient d'absorption optique lorsque $\mu_e > \mu_\beta$. Dans ce cas, l'amplitude du signal variera proportionnellement à ω^{-1} . Il y a alors saturation thermique (ou photoacoustique), en plus de la saturation optique. Inversément, lorsque $\mu_e < \mu_\beta$, l'amplitude du signal PA sera proportionnelle à μ_e et $\omega^{-3/2}$. La saturation photoacoustique disparaît mais la saturation optique demeure. Dans le cas des matériaux transparents ($\mu_\beta > l_e$), cas où la lumière est absorbée sur toute la longueur de l'échantillon, le signal PA sera proportionnel à $\beta \cdot l_e$ si l'échantillon est thermiquement mince. Il varie alors selon ω^{-1} . Le signal est indépendant de l'épaisseur de l'échantillon s'il est thermiquement épais et sera proportionnel $\beta \cdot \mu_e$. Il variera en fonction de $\omega^{-3/2}$.

2) Cas des organismes photosynthétiques

Nous pouvons réécrire le signal PA (Q) de la façon suivante:

$$Q = k_i \cdot I_{abs} \left\{ 1 - \sum_i \left(\frac{\phi_i \cdot \Delta E_{pi}}{N \cdot h \cdot \nu} \right) - \left(\frac{\phi_l \cdot \nu_l}{\nu} \right) \right\} \quad (10)$$

où k_i et I_{abs} représentent respectivement une constante instrumentale et la fraction de lumière absorbée par l'échantillon; ϕ_i [$E \cdot s^{-1} \cdot m^{-2}$] est le rendement quantique de la réaction photochimique i ; ΔE_{pi} est le changement d'énergie interne par mole de produit formé; ϕ_l est le rendement quantique de luminescence; ν_l et ν sont la fréquence de la lumière émise et absorbée; N est le nombre d'Avogadro (6.023×10^{23}) et h la constante de Planck [6.63×10^{-34} J·s].

Nous avons déjà mentionné que la fluorescence peut être négligée. Dans ce cas, la simplification de l'équation nous donne l'expression du signal obtenu suite à l'utilisation d'un faisceau de lumière modulée (d'où l'indice m):

$$Q_m = k_i \cdot I_{abs} \left\{ 1 - \sum_i \left(\frac{\phi_i \cdot \Delta E_{pi}}{N \cdot h \cdot \nu} \right) \right\} \quad (11)$$

L'analyse de l'équation 11 permet de voir clairement qu'une modification (augmentation ou diminution) de l'activité photosynthétique, représentée par les termes entre parenthèses, va se traduire par un changement contraire (diminution ou augmentation) du signal PA. Nous pouvons également déduire de cette équation qu'une variation de la fréquence de modulation, donc de la durée pendant laquelle nous observons les réactions photochimiques, permet d'obtenir des informations sur la vitesse de ces dernières. Dans le cas de la photosynthèse, ces informations nous renseigneraient sur la cinétique de transformation des intermédiaires ainsi que sur le contenu en énergie (Rosencwaig, 1980a)

La détermination quantitative de cette efficacité s'effectue simplement en saturant les réactions photochimiques par l'application d'un faisceau continu de lumière blanche (*lumière saturante*)(Bults *et al.*, 1982b). Lors de l'application de la lumière saturante, la lumière modulée absorbée contribuera exclusivement à la production de chaleur. Ceci nous permet d'exprimer le signal PA produit en présence de lumière modulée (faisceau d'analyse) et de lumière saturante par l'équation 12.

$$Q_{ms} = k_i \cdot I_{abs} \quad (12)$$

Cette dernière équation nous permet de déterminer l'expression d'un paramètre important obtenu grâce à la SPA: l'emmagasinement d'énergie photosynthétique (EEP):

$$EEP = 1 - \frac{Q_m}{Q_{ms}} \quad (13)$$

L'équation 13 fait ressortir la simplicité de la technique. Ainsi, en mesurant la production de chaleur par un échantillon en présence et en absence d'une lumière saturante,

l'activité photosynthétique de ce dernier peut être évaluée. Il convient de préciser que la SPA ne permet pas de mesurer directement l'activité photosynthétique. La technique permet plutôt de déduire cette valeur en comparant l'amplitude du signal en présence et en absence de lumière saturante.

La technique a connu un certain succès depuis plus de 20 ans dans la caractérisation de l'emmagasinage d'énergie chez divers organismes. Dans le cas des feuilles, la SPA permet également de mesurer une autre composante reliée à l'activité photosynthétique: le dégagement d'oxygène tel que démontré par Bults *et al.* (1981a). Par la suite, Poulet *et al.* (1983) ont proposé une approche mathématique qui tire avantage de la différence dans la vitesse de propagation de l'onde thermique par rapport à la vitesse de diffusion de l'oxygène dans la phase aqueuse du cytoplasme, environ 1.5×10^{-3} et $2.1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, respectivement (Bults *et al.*, 1982a). Cette différence permet de distinguer, au moyen d'un amplificateur à verrouillage de phase, une composante (photothermique) reliée strictement au dégagement de chaleur (émissions non-radiatives), et une composante (photobarique) reliée au dégagement photosynthétique d'oxygène. Notez que ces deux composantes originent d'un point commun, le chloroplaste.

Alors que l'EEP se révèle un bon indicateur de l'activité photosynthétique, la contribution de la composante d'O₂ comporte certaines limitations (sensibilités à la fréquence de modulation utilisée, interventions de divers mécanismes consommateurs d'oxygène)(Malkin, 1987; Charland *et al.*, 1992).

Avant d'élaborer davantage sur l'analyse vectorielle du signal PA proposée par Poulet *et al.* (1983), considérons l'aspect scalaire de ce dernier. Dans ce cas, l'expression de l'équation 14 permet de décrire les diverses contributions au signal PA.

$$A = A_{Tm} - EEP + A_{O_2} \quad (14)$$

où A désigne l'amplitude du signal PA, A_{Tm} et A_{O_2} représentent l'amplitude de la composante photothermique maximale (obtenue en présence de lumière saturante) et l'amplitude de la composante attribuable aux échanges d'oxygène, respectivement.

La différence entre la vitesse de diffusion de l'oxygène et la vitesse de propagation de l'onde thermique permet d'éliminer la composante d'oxygène tout en conservant la composante thermique du signal PA. La figure 15 illustre, sous forme scalaire, le signal PA à basse et à haute fréquences de modulation. Il convient de signaler dès maintenant qu'une fréquence sera considérée comme **haute** lorsque nous pouvons négliger la contribution de la composante d'oxygène. Il n'existe pas de seuil absolu où cette situation survient et la valeur de celui-ci dépend de l'espèce utilisée (Bults *et al.*, 1981a; Charland, 1989), de la condition physiologique de l'échantillon ainsi que des conditions expérimentales.

Dans la pratique, nous mesurons les variations du signal PA qu'occasionne l'application d'un faisceau saturant continu sur le spécimen sous analyse. Ce faisceau, en saturant la photosynthèse, élimine toute contribution du faisceau modulé à l'EEP et, le cas échéant, au dégagement d'oxygène. Puisque le caractère modulé de toute composante est essentiel à sa détection en SPA, ces deux composantes se trouvent ainsi à ne plus contribuer au signal même si l'activité photosynthétique de l'échantillon est à son maximum. De plus, la fraction d'énergie lumineuse modulée absorbée qui contribuait à l'activité photosynthétique se retrouve maintenant sous forme de chaleur, seule composante observable en présence de lumière saturante. Si cette mesure est effectuée à une fréquence de modulation où l'oxygène ne contribue pas au signal, elle permet de déduire l'EEP tel que décrit à l'équation 13. Comme la valeur de l'EEP ne varie pas de façon significative (i.e. sa proportion par rapport à la

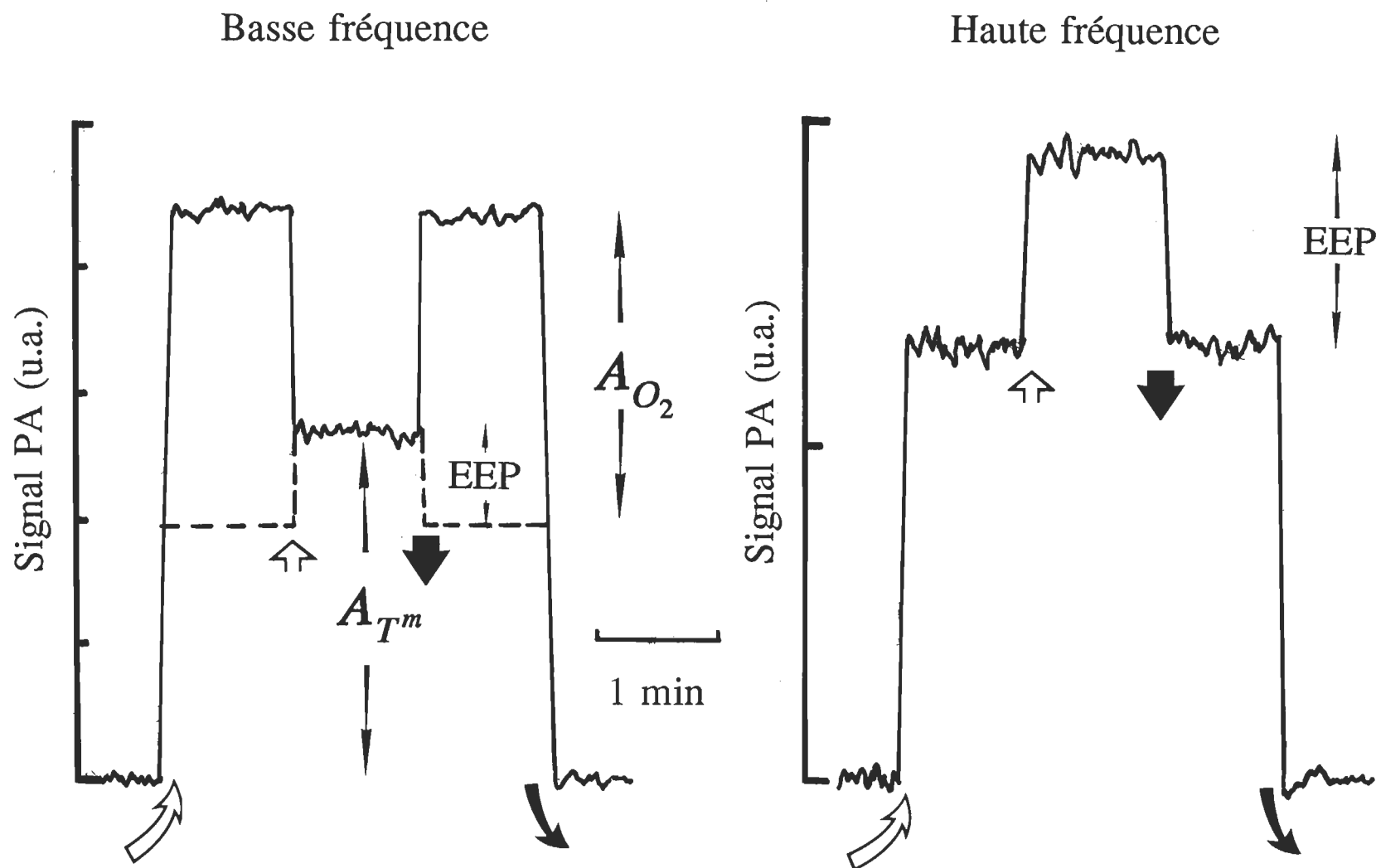


Figure 15. Le signal photoacoustique: représentation scalaire

↗ faisceau d'analyse (modulé) présent, ↘ absent; ↗ lumière saturante présente, ↘ absente.
Les abréviations sont expliquées dans le texte.

composante thermique maximale demeure la même) dans le domaine des fréquences utilisées (10 à 350 Hz)(Malkin *et al.*, 1992), elle peut servir à la détermination de la composante d'oxygène à basse fréquence de modulation.

L'approche mathématique développée par Poulet *et al.* (1983) repose sur le traitement vectoriel des composantes du signal PA comme nous l'avons mentionné. La figure 16 illustre une telle représentation vectorielle à basse fréquence de modulation. Nous présentons les divers vecteurs dans le cadran I de façon arbitraire. Dans la pratique, l'angle du vecteur thermique dépend, entre autres, de la fréquence de modulation (l'angle augmente en fonction d'une réduction de la fréquence).

La composante vectorielle \vec{R} correspond au signal PA total obtenu à basse fréquence de modulation. Elle représente la somme vectorielle de la composante thermique (\vec{T}) et de la composante associée aux échanges d'oxygène (\vec{O}). En présence de lumière saturante, nous assistons à la disparition de la composante \vec{O} alors que la composante thermique atteint sa valeur maximale (\vec{T}^m) suite à l'élimination de l'EEP. La connaissance de l'EEP permet de déterminer le rapport entre la composante \vec{T}^m et \vec{T} à basse fréquence de modulation et d'évaluer ainsi le module du vecteur d'oxygène selon l'équation 15,

$$A_{O_2} = \sqrt{[Q_{m(0^\circ)}]^2 + \left[Q_{m(90^\circ)} - \left\{ 1 - \left(\frac{EEP}{100} \right) \right\} \cdot Q_{ms(90^\circ)} \right]^2} \quad (15)$$

où l'EEP est déterminé à haute fréquence et $Q_{m(0^\circ)}$, $Q_{m(90^\circ)}$ et $Q_{ms(90^\circ)}$ s'obtiennent directement de l'amplificateur à verrouillage de phase à basse fréquence. $Q_{m(0^\circ)}$ et $Q_{m(90^\circ)}$ représentent le signal en présence du faisceau modulé seulement, en phase et en quadrature par rapport au signal de référence en provenance du modulateur, respectivement. $Q_{ms(90^\circ)}$ représente le signal en quadrature en présence du faisceau modulé et de la lumière saturante.

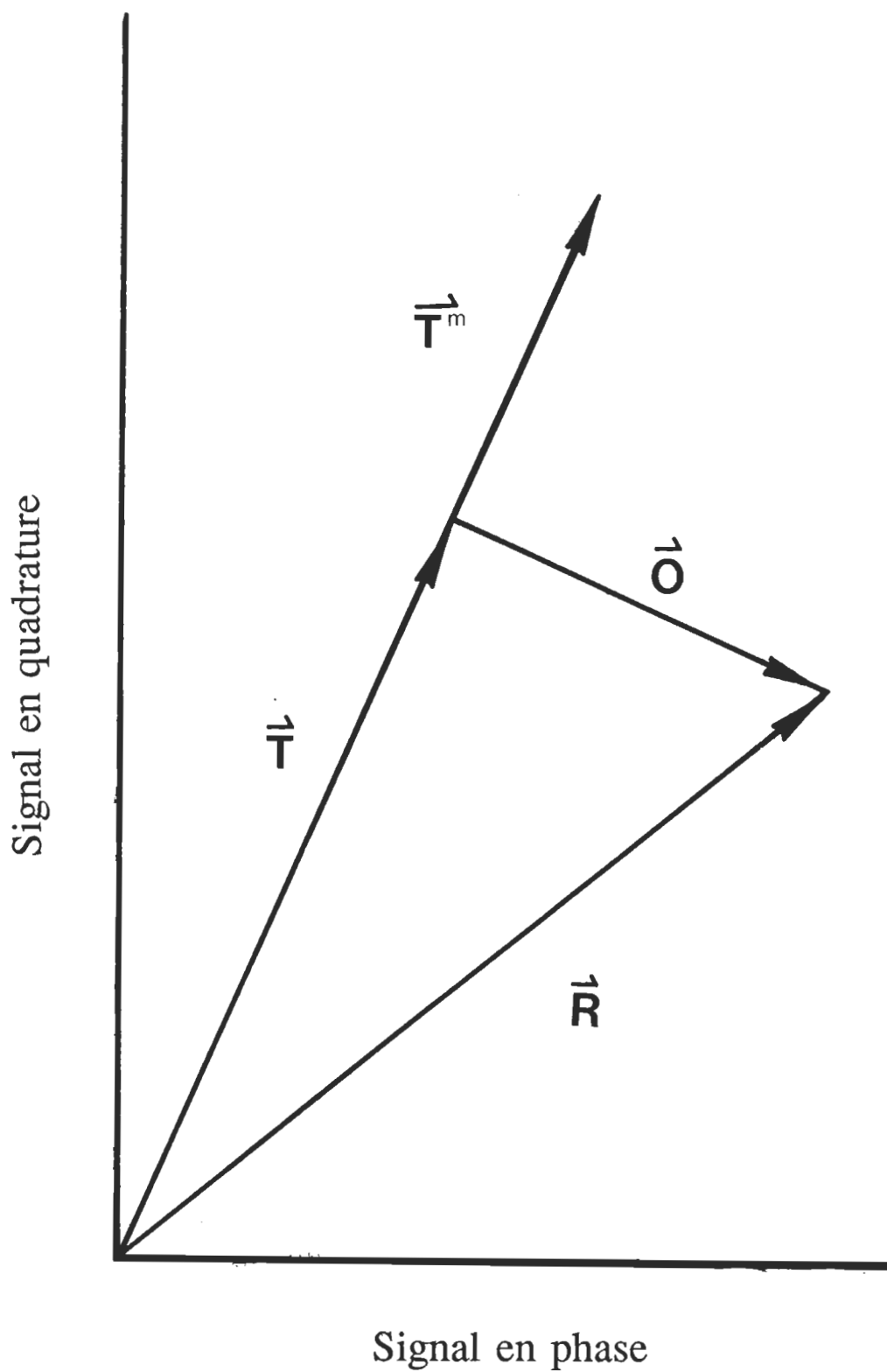


Figure 16. Le signal photoacoustique: représentation vectorielle

\vec{O} : composante d'oxygène; \vec{R} : signal résultant; \vec{T} : composante thermique; \vec{T}^m : composante thermique maximale.

Alors que la détermination de l'EEP tient compte de l'énergie absorbée par le spécimen (en divisant par Q_{ms}), le calcul d' A_{O_2} ne le fait pas. Pour corriger cette situation, de façon à pouvoir comparer les valeurs de ce paramètre entre divers échantillons, il est d'usage de normaliser le signal d'oxygène en le divisant par la composante thermique maximale obtenue dans les mêmes conditions.

Rappelons que la SPA permet la détermination de deux paramètres susceptibles d'exprimer, de façon différente, l'activité photosynthétique d'une feuille. Le premier, l'emmagasinement d'énergie photosynthétique, obtenu à haute fréquence, et le second, le signal d'oxygène normalisé (A_{O_2}/A_{Tm}), déterminé à basse fréquence de modulation. Les valeurs d'activité photosynthétique présentées dans la littérature sont généralement exprimées en mg de CO_2 fixé par unité de surface foliaire par unité de temps. Ces mesures se comparent difficilement à notre façon d'exprimer ce paramètre en SPA (EEP). En effet, les mesures de consommation du CO_2 donnent une indication globale de la capacité de capture et de conversion de l'énergie lumineuse, de fixation du CO_2 atmosphérique et synthèse des glucides de la plante. Elles font intervenir les caractéristiques de diffusion du CO_2 dans le spécimen et nous informent sur ce qu'il convient d'appeler la "photosynthèse nette".

Les mesures d'EEP obtenues en spectroscopie photoacoustique nous renseignent sur l'efficacité de capture et de conversion de l'énergie lumineuse du spécimen. Elles démontrent une indépendance face aux caractéristiques de diffusion des gaz de la feuille. La situation diffère cependant pour les mesures d'échanges d' O_2 en SPA qui dépendent, non seulement de ces caractéristiques, mais également de la présence des processus consommateurs d'oxygène tels la réaction de Melher, la chlororespiration et la photorespiration (Havaux *et al.*, 1987b; Mauzerall, 1990; Charland *et al.*, 1992).

C) Applications

Les premières applications de la SPA dans le domaine de la biologie et, plus particulièrement de la photosynthèse, remontent à la fin des années 70. Le tableau 6 présente une liste des revues touchant les diverses applications de la SPA en biologie végétale. Nous devons signaler que les applications de la SPA en biologie ne se limitent pas à l'étude des végétaux. Plusieurs travaux touchent d'autres domaines comme la vision ainsi que la dermatologie.

Notre intérêt porte cependant sur l'étude de la photosynthèse et de ses mécanismes. Il convient de souligner quelques études importantes. Plusieurs auteurs ont travaillé avec des membranes chloroplastiques entières ou fragmentées (Cahen *et al.*, 1978; Lasser-Ross *et al.*, 1980; Dienstbier *et al.*, 1984; Carpentier *et al.*, 1985, 1988, 1989, 1990, 1991; Owens *et al.*, 1990). Cependant, c'est sur des feuilles ou fragments de feuilles que la technique fut le plus souvent utilisée. Bults *et al.* (1981a) sont les premiers à avoir quantifié le dégagement d'oxygène de feuilles au moyen de la SPA. Par la suite, la technique allait connaître une certaine popularité pour l'étude des mécanismes de la photosynthèse et plus particulièrement le phénomène de transfert d'énergie entre les photosystèmes (Canaani *et al.*, 1982, 1984a, b, 1989; Canaani & Malkin, 1984a, b; Canaani, 1985, 1986, 1987; Dau & Hansen, 1989; Charland *et al.*, 1991; Fork *et al.*, 1991; Veeranjanyulu *et al.*, 1991c, d). L'application de la SPA pour étudier l'activité photosynthétique des feuilles semble donc bien établie.

D'un plus grand intérêt pour nous, certains articles traitent des applications de la SPA dans le domaine de l'écophysiologie: étude des stress lumineux (Buschmann, 1987; Carpentier *et al.*, 1987; Buschmann & Prehn, 1988; Havaux, 1988, 1989, 1991, 1992a; Canaani *et al.*, 1989) thermiques (Havaux *et al.*, 1987c, d, 1988a, b, 1989) ou hydriques (Veeranjanyulu & Das, 1982; Canaani *et al.*, 1985, 1986; Havaux *et al.* 1987a, b; Havaux, 1992 a, b) des effets

Tableau 6

**Sommaire des revues sur les applications de la spectroscopie
photoacoustique dans le domaine de la biologie végétale**

AUTEUR(S)	SUJET OU DISCIPLINE
Cahen <i>et al.</i> , 1980	systèmes biologiques
Balasubramanian & Rao, 1981, 1986	systèmes biologiques
Malkin <i>et al.</i> , 1981a, b	photosynthèse
Bults <i>et al.</i> , 1981a, b	relation entre la morphologie et physiologie foliaire
Buschmann <i>et al.</i> , 1984	photosynthèse
Kirkbright <i>et al.</i> , 1984	systèmes biologiques
Braslavsky, 1986, 1989	systèmes biologiques
Buschmann, 1986	photosynthèse
Buschmann & Prehn, 1986	photosynthèse
Malkin, 1986	photosynthèse
Buschmann, 1989	botanique ("plant science")
N'soukpoé-Kossi & Leblanc, 1990	photosynthèse
Buschmann & Prehn, 1990	botanique ("plant science")
Fork & Herbert, 1993	photosynthèse

de la pollution atmosphérique (Ronen *et al.*, 1984, 1985; Nagel *et al.*, 1987, Marquezini *et al.*, 1990; Veeranjanyulu *et al.*, 1990, 1991a, b, 1992) et des mécanismes impliqués dans l'action de ces facteurs environnementaux. Nous ne prétendons pas que la liste de références présentée ci-haut soit complète. Elle donne cependant une bonne idée des travaux effectués sur des plantes au moyen de la SPA.

Mentionnons qu'Ortner & Rosencwaig (1977) sont les premiers à suggérer l'application de la SPA en écophysiologie. Ronen *et al.* (1984) ont étudié l'effet de la pollution de l'air et de l'ion bisulfite sur l'activité photosynthétique de l'algue *Trebouxia* sp. du lichen fruticuleux *Ramalina duriaei*. Nagel *et al.* (1987) ont également utilisé la SPA lors d'une étude sur le dépérissement du sapin pectiné. L'absence d'analyse statistique (ici comme dans la plupart des articles en SPA, malheureusement) et l'application de la technique pour l'analyse d'échantillon visiblement différents donnent peu d'impact à cette étude. Il faut déplorer que la SPA n'a pas encore fait l'objet d'une application afin d'étudier les mécanismes d'action des polluants sur la photosynthèse. La technique possède cependant un potentiel évident pour l'étude du fonctionnement de l'appareil photosynthétique en situation de stress comme en témoignent les nombreux articles sur la photoinhibition (voir tableau 6).

D) Spectres et profils de profondeur

L'utilisation de la SPA dans le domaine de la biologie ne se limite pas à l'étude des mécanismes de la photosynthèse. Les caractéristiques de cette technique permettent de tirer avantage d'un autre domaine d'application: l'analyse spectrale. La production d'un signal PA dépend directement de la capacité de l'échantillon à absorber la lumière qu'il reçoit, donc de son spectre d'absorption électronique. Cette dépendance devient évidente lorsque l'on

considère le signal PA normalisé (i.e. qui tient compte de l'intensité lumineuse à la longueur d'onde d'excitation). Selon l'équation 11, ce signal peut être décrit de la façon suivante:

$$Q_n = \frac{Q_m}{I_{abs}} = k_i \cdot \left\{ 1 - \sum_i \left(\frac{\phi_i \cdot \Delta E_{pi} \cdot \lambda}{N \cdot h} \right) \right\} \quad (16)$$

où Q_n représente le signal normalisé et λ la longueur d'onde du faisceau d'analyse (modulé).

Ainsi, en utilisant une source lumineuse polychromatique conjointement à un monochromateur, nous pouvons obtenir un spectre photoacoustique. Le spectre ainsi obtenu dépend également de l'intensité lumineuse à chacune des longueurs d'onde, c'est-à-dire du spectre d'émission de la lampe utilisée. D'autres contraintes techniques viennent s'ajouter à la non linéarité spectrale de la lampe telles que le vieillissement de la lampe et l'usure¹ des composantes optiques (miroirs et lentilles). Enfin, l'ouverture des fentes du monochromateur affectent, elles aussi, la quantité ainsi que la qualité de la lumière parvenant à l'échantillon.

Afin d'éliminer d'éventuelles contributions de la lampe, du monochromateur et des diverses composantes optiques, il suffit d'effectuer périodiquement le spectre d'un corps noir de façon à tenir compte des variations de l'intensité de la source d'excitation. Le spectre brut de l'échantillon est alors divisé par celui du corps noir pour donner un spectre corrigé. Seuls des spectres corrigés sont comparables entre eux.

Renard & Lion (1982) ont discuté des avantages de la SPA par rapport à la spectroscopie d'absorption par transmission ou par réflexion. Nous pouvons les résumer ainsi:

- signal proportionnel à l'énergie des photons absorbés,

¹ Les lampes du type de celle que nous avons utilisées (voir Matériel et Méthodes) produisent une quantité appréciable d'ozone. Bien qu'un système de ventilation permet d'éliminer la presque totalité de ce gaz, son potentiel oxydant affecte néanmoins, à plus ou moins long terme, la surface des diverses composantes optiques contenues dans le boîtier de la lampe. La quantité ainsi que la qualité de la lumière qu'elle produit risquent donc d'être affectées.

- possibilité d'obtenir des spectres d'échantillons opaques,
- indifférence du signal face à la diffusion de la lumière (i.e. seule la lumière absorbée contribue au signal).

Ces caractéristiques de la SPA en font une technique particulièrement bien adaptée à l'étude des feuilles dont les propriétés optiques compliquent considérablement leur analyse au moyen des techniques spectroscopiques conventionnelles. Néanmoins, la SPA comportent certaines limitations qui ne semblent pas avoir reçu une attention suffisante et que voici.

Nous avons mentionné l'incertitude concernant l'épaisseur de la couche contribuant réellement à la génération de l'onde acoustique. Il demeure que cette valeur doit être considérée comme une approximation avec une incertitude importante (pouvant varier de μ_e à plus de six fois sa valeur). Cette incertitude diminue donc l'intérêt que l'on pourrait porter à l'une des applications de la SPA. Nous faisons ici référence à la technique des profils de profondeur.

Cette technique consiste à effectuer plusieurs spectres successifs d'un même échantillon en modifiant à chaque fois la fréquence de modulation. Selon l'équation 8, une augmentation de cette fréquence permet de sonder une mince couche de l'échantillon située près de sa surface. Inversement, il devient possible de sonder en profondeur dans l'échantillon si l'on diminue suffisamment la fréquence de modulation. Dans le cas d'échantillons biologiques, la profondeur maximale pouvant être sondée ne dépasse guère les 70 μm puisque notre équipement ne permet pas d'utiliser des fréquences de modulation inférieure à 10 Hz. De plus, le choix des coefficients de diffusion thermique présentés dans la littérature s'avère malheureusement restreint et cette restriction contribue à l'incertitude dans la détermination de l'épaisseur de la couche sondée.

Une autre contrainte, imposée par le choix d'une fréquence de modulation élevée, vient s'ajouter aux précédentes. En effet, l'augmentation de la fréquence de modulation s'accompagne d'une réduction de l'amplitude du signal inhérente, d'une part, à la baisse du nombre de photons absorbés par cycle d'excitation (voir équation 10) et, d'autre part, à la réduction de l'épaisseur de la couche sondée (μ_e). La variation de la fréquence de modulation, en modifiant μ_e , alors que μ_b et l_e demeurent constants, risque de nous faire passer d'un cas limite à l'autre (figure 14). La dépendance du signal peut alors varier et rendre l'interprétation du profil de profondeur hasardeuse. Nous croyons néanmoins qu'un certain nombre d'informations peuvent être tirées des spectres PA et des profils de profondeur.

E) Bilan thermique de la feuille

En SPA, notre façon de considérer la production de chaleur par une feuille soumise au faisceau d'analyse diffère de l'approche utilisée par les écophysiologistes pour décrire le bilan thermique (ou bilan radiatif) d'une feuille en milieu naturel. L'établissement d'un tel bilan doit tenir compte de l'énergie absorbée par la feuille (dans le visible et l'infra-rouge) et de l'énergie réémise par celle-ci (réémission des radiations infra-rouges, convection et conduction thermiques, pertes de chaleur associées à l'évaporation)(équation 17). La différence entre les apports énergétiques du milieu et les pertes par la feuille est utilisée pour le métabolisme (photosynthèse,...), et contribue à l'augmentation de la température de la feuille (Nobel, 1983).

$$Q_{abs.} = Q_{chal.} + Q_{cond.} + Q_{conv.} + Q_{lat.} + Q_{mét.} + Q_{rad.} \quad (17)$$

où $Q_{abs.}$ est l'énergie absorbée par la feuille, $Q_{chal.}$ est l'énergie accumulée sous forme de *chaleur*, $Q_{cond.}$, $Q_{conv.}$, $Q_{lat.}$, $Q_{mét.}$ et $Q_{rad.}$ représentent la fraction de l'énergie absorbée dissipée par *conduction*, par *convection*, par *évaporation*, utilisée pour le *métabolisme* (dont la photosynthèse) ou émise sous forme de *radiation* (émission du type corps noir, respectivement).

Diverses approches mathématiques ont été proposées afin d'analyser en détail le bilan thermique de la feuille (Nobel, 1983; Salisbury & Ross, 1992). Des équations permettent de considérer les divers paramètres intrinsèques (propriétés optiques, métabolisme de la feuille) et extrinsèques (température ambiante, humidité relative, vitesse des vents,...) susceptibles de modifier les échanges énergétiques de la feuille. Il faut cependant noter que seuls certains paramètres intrinsèques interviennent lors des mesures PA. En effet, la SPA repose sur la détection d'un signal **modulé** dont la fréquence correspond à celle du faisceau d'analyse. Toute composante qui ne répond pas à cette condition ne participe pas au signal PA, sauf comme bruit de fond.

Soulignons que la SPA repose sur la mesure de $Q_{\text{conv.}}$ alors que $Q_{\text{cond.}}$ est négligé comme c'est souvent le cas pour l'équation 20. Cependant, cette équation ne peut pas être invoquée pour expliquer le comportement thermique de l'échantillon de feuille dans la cellule PA pour les raisons suivantes. Dans un premier temps, alors que les écophysiologistes considèrent que $Q_{\text{mét.}}$ est négligeable dans le bilan énergétique de la feuille ($\leq 1\%$ de l'énergie absorbée; Nobel, 1983), la littérature relative à la SPA rapporte des valeurs d'EEP (paramètre comparable à $Q_{\text{mét.}}$) de l'ordre de 30% (voir revues présentées au tableau 6). Ce point représente une différence fondamentale entre la façon de considérer le bilan thermique de la feuille en écophysiologie et le comportement thermique d'un échantillon tel que considéré en SPA. Deuxièmement, les autres composantes, telles que $Q_{\text{lat.}}$ et $Q_{\text{rad.}}$, peuvent être considérées comme bruit de fond car ces paramètres subissent une atténuation importante ou sont négligeables dans le bilan thermique tel que considéré en SPA.

CHAPITRE V

MATÉRIEL ET MÉTHODES

A) Matériel végétal

À cause de son importance économique au Québec et parce qu'il semble particulièrement affecté par le dépérissement, nous avons effectué la presque totalité de nos expériences sur l'érable à sucre. Pour cela, trois groupes d'âge ont été étudiés: des semis d'environ 3 mois obtenus au laboratoire, des sauvageons d'âge variant entre 3 et 7 ans et, finalement, des arbres matures dans une érablière mature. L'intérêt de vérifier les effets de l'ozone sur des plantes de divers groupes d'âge repose, en partie, sur les observations de Raynal *et al.* (1982a, b) qui ont rapporté une différence dans la sensibilité de l'érable à sucre aux précipitations acides en fonction du stade physiologique dans lequel se trouve la plante.

1) Érable à sucre

L'érable à sucre, angiosperme ligneux, constitue l'espèce ligneuse à bois dur (ou franc) la plus abondante en Amérique du Nord. Au Canada, sa distribution se limite sud du Québec et de l'Ontario. Son aire de distribution s'étend également sur une portion importante ($1.25 \times 10^9 \text{ km}^2$) de l'est des États-Unis. Sur ce territoire, l'érable à sucre occupe des régions couvrant un large spectre de conditions environnementales (température, précipitations,...)(Godman *et al.*, 1992), ce qui témoigne de sa plasticité écologique. L'espèce est d'ailleurs reconnue

pour sa grande tolérance à l'ombre (Logan & Krotkov, 1968; Lei & Lechowicz, 1990; Godman *et al.*, 1992). Sous notre climat, la période de croissance s'étend de la fin du mois de mai, quand débute la feuillaison, jusqu'au mois d'octobre avec la chute des feuilles.

a) Semis

Nous avons produit des semis d'érable à sucre à partir de graines. Notre démarche, les résultats obtenus ainsi qu'une discussion sont présentés à l'annexe II.

b) Sauvageons

Deux catégories de sauvageons sont à distinguer. Pour les fumigations au laboratoire, des sauvageons âgés entre 5 et 7 ans ont été prélevés dans une érablière de la pépinière expérimentale du Gouvernement du Québec (Berthierville, QC). Dans la mesure du possible, des sauvageons similaires ont été sélectionnés (0.5 à 0.8 m de hauteur et 20 à 30 feuilles). Ils ont été transférés, avant l'éclosion des bourgeons, dans des pots de 30 cm de diamètre (20 cm de profondeur) avec du sol prélevé au même endroit.

Nous les avons conservés à l'extérieur sur le campus de l'université, dans un endroit ombragé situé à proximité du laboratoire pour toute la durée des expériences. Les conditions d'éclairement ainsi que la température, toutes deux variables, étaient comparables à celles régnant dans l'érablière d'où proviennent ces sauvageons. L'arrosage était effectué deux à trois fois par semaine avec de l'eau du robinet à un point excédant légèrement la capacité au champ du sol.

Pour les expériences dans les chambres d'exclusion, des sauvageons âgés entre 3 et 5 ans prélevés au même endroit que les précédents, ont été transplantés dans des pots de 30 cm de diamètre (20 cm de profondeur). Le sol utilisé provenait du sous-bois de l'érablière expérimentale du MAPAC (Tingwick, QC). Un technicien sur place veillait à l'arrosage des plantes. Afin de minimiser l'échauffement des racines, les pots ont été enterrés au raz du sol.

c) Échantillons sur le terrain

Afin d'obtenir des mesures provenant d'érables à sucre matures, trois arbres appartenant à des classes¹ différentes de dépérissement ont été sélectionnés sur le site de l'érablière expérimentale de la station de Tingwick (Centre de Recherche Acéricole, 45°55'N; 71°59'O). Un sécateur à émondage a été utilisé pour la collecte des échantillons. Des branches d'orientation similaire ont été prélevées dans la partie basse et moyenne de la couronne. Dix feuilles de chaque branche ont été sélectionnées en rejetant celles qui présentaient des signes évidents de contamination (fongique, bactérienne ou virale), d'attaque par les insectes ou de nécroses, ceci afin de minimiser la variabilité potentielle induite par ces facteurs non contrôlés. Dans le cas des arbres matures, le prélèvement des feuilles nous était dicté par deux points. Premièrement, la portion supérieure des cimes est la première à être dépourvue de feuilles lors du dépérissement, ce qui restreint la zone échantillonnable. Afin de comparer des feuilles provenant de régions semblables, le prélèvement devait donc se limiter aux portions moyennes et inférieures de la cime. Deuxièmement, une moins grande variabilité y a été observée au niveau de la composition chimique foliaire (Morrison, 1985), ce qui nous

1 Le niveau de dépérissement des arbres échantillonnés a été évalué par les techniciens du Ministère de l'Agriculture, des Pêches et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) et du Ministère de l'Énergie et des Ressources du Québec (MER) selon une méthode standard (Roy *et al.*, 1985).

porte à croire qu'il pourrait en être de même pour les paramètres PA. Il semble donc préférable d'effectuer les prélèvements dans ces deux portions de la cime.

Dans le cas des spécimens provenant de Tingwick (fumigations à long terme dans les chambres d'exclusion et arbres matures), les feuilles étaient immédiatement insérées entre deux feuilles de papier absorbant humide puis placées dans des sacs de polyéthylène étanches préalablement identifiés. Tous les sacs étaient finalement déposés dans une bouteille thermos contenant de la glace. Cette façon de procéder assurerait la stabilité des propriétés spectrales des feuilles pour plus de 72 h, aux longueurs d'onde comprises entre 300 et 1400 nm (Doughtry & Biehl, 1985). Rappelons que les mesures PA étaient effectuées au plus tard 8 h après les prélèvements des feuilles et que la longueur d'onde du faisceau d'analyse est à l'intérieur de la bande spectrale analysée par Doughtry et Biehl (1985).

2) Pois

Des graines de pois (cv. Early Dwarf) ont été mises à germer dans des pots circulaires de 15 cm de diamètre (12 cm de profondeur) contenant un mélange de terre organique : tourbe de sphaigne : vermiculite : sable (2:1:1:0.5 par volume). Ces pots sont placés dans la chambre de croissance jusqu'au moment de l'utilisation des plantes. À l'exception de l'intensité lumineuse ($120 \pm 20 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$)¹, toutes les autres conditions environnementales sont les mêmes que celles décrites pour les semis d'érable à sucre (voir annexe II). Le mélange est arrosé au besoin avec de l'eau du robinet à un point excédant légèrement sa capacité de rétention.

1 Cette intensité lumineuse correspond à environ $600 \pm 100 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ de RAP.

B) Fumigations

Une première approche dans l'étude de l'effet des polluants gazeux consiste à contrôler le plus grand nombre de facteurs possibles. Pour cela, nous avons mis au point une chambre de fumigation dont la description fait l'objet de l'annexe I. Cependant, il importe de vérifier les effets des polluants dans des conditions expérimentales aussi semblables que possibles de celles prévalant dans la nature.

À cette fin, nous avons eu recours aux chambres d'exclusion de l'érablière expérimentale de Tingwigk décrivent au point 2. Dans ce dernier cas, les variations naturelles des conditions environnementales ainsi que divers stress peuvent exercer leur action et modifier l'effet du polluant étudié.

1) En chambre de fumigation

Lors des expériences en chambre de fumigation, dix semis d'environ 3 mois ou encore, cinq sauvageons étaient sélectionnés pour leur uniformité. Sauf indications contraires, une fumigation de contrôle était effectuée le jour précédant un traitement. Les conditions expérimentales lors de cette fumigation de contrôle étaient similaires à celles existant lors du traitement, à l'exception de la composition du gaz auquel nous exposons les plantes. Seul de l'air filtré était introduit dans la chambre lors de fumigation de contrôle. Les concentrations d'ozone ou de bioxyde de soufre sont indiquées dans la section Résultats.

Pour chacune des fumigations, cinq semis ou sauvageons étaient utilisés simultanément. Dans le cas des semis, l'expérience était répétée avec cinq autres spécimens, au plus tard

trois jours après la première série. La durée des fumigations fut fixée à 4 h (de 11:00 à 15:00) de façon à tenir compte des observations rapportées dans la littérature concernant la relation dose-effet. Selon Heck *et al.* (1966) et Hibben (1969), l'exposition d'une plante à une concentration élevée d'ozone pour une courte durée (1 h et 600 ppb par exemple) provoquerait un effet plus important qu'une exposition de plus longue durée mais à une concentration moindre (3 h à 2600 ppb). Ceci met bien en relief l'inaptitude de la notion de dose qui, pour une valeur égale, n'implique pas nécessairement le même effet. Les semis et les sauvageons étaient introduits au moins 30 min avant le début des expériences afin de permettre leur acclimatation et assurer l'ouverture des stomates. À la fin des traitements, ils étaient retournés dans la chambre de croissance (semis) ou à l'extérieur (sauvageons).

La température et l'humidité relative à l'intérieur de la chambre étaient de $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ et $45 \pm 15\%$, respectivement. Dans tous les cas, l'humidité du sol était vérifiée visuellement (semis) ou au moyen d'un hygromètre (Plant Care, Taiwan) pour éviter le flétrissement et la fermeture des stomates qui en résultent.

2) En chambres d'exclusion

Neuf chambres d'exclusion ("open-top chamber") situées sur l'érablière expérimentale du MAPAC (Tingwick, QC) furent utilisées. Elles ont été construites selon le modèle décrit par Heagle *et al.* (1973). Renaud *et al.* (1992) donnent une description des installations de Tingwick, incluant une analyse détaillée de leur performance.

Trois traitements différents ont été assignés aléatoirement: trois chambres ont reçu de l'air filtré au charbon activé (efficacité moyenne de 84%), trois autres chambres ont reçu

de l'air ambiant (concentration moyenne d'ozone de 31 ppb pour la saison de végétation 1991), et les trois dernières chambres ont reçu de l'air contenant trois fois la concentration ambiante d'ozone (figures 17, 18 et 19). L'ozone est produit par le passage d'oxygène dans un générateur à décharge électrique (modèle O₃ SP38-ARW-auto control; Ozone Research & Equipment Corp., Phoenix, AR). La concentration d'ozone dans les chambres était mesurée au moyen d'un analyseur photométrique similaire à celui décrit précédemment. Deux sauvageons furent placés aléatoirement dans chacune des chambres. Leur position est demeurée inchangée pour la durée de l'expérience.

La période de mesure s'étendait de la fin du mois de juin au début du mois de septembre. Pendant cette période, les plantes sont dans un état de développement stationnaire. La composition en éléments inorganiques des feuilles d'érable à sucre demeure relativement constante durant cette période (Hoyle, 1965; Leaf, 1973). Les conditions environnementales y démontrent peu de variation. Finalement, l'activité photosynthétique y présente une certaine stabilité (Jurik, 1986a).

Afin de mesurer les effets possibles des chambres d'exclusion ("chamber effects"; Heagle *et al.*, 1979) sur l'activité photosynthétique des érables, des mesures ont été effectuées sur deux plantules maintenues dans un champ avoisinant les chambres.

C) Traitement au sulfite de sodium (Na₂SO₃)

Dans le but d'analyser certains aspects du mode d'action du SO₂, nous avons étudié l'effet du sulfite de sodium sur l'activité photosynthétique du pois. La résistance au bioxyde de soufre rapportée pour l'érable à sucre nous a obligé à utiliser le pois, une espèce sensible.

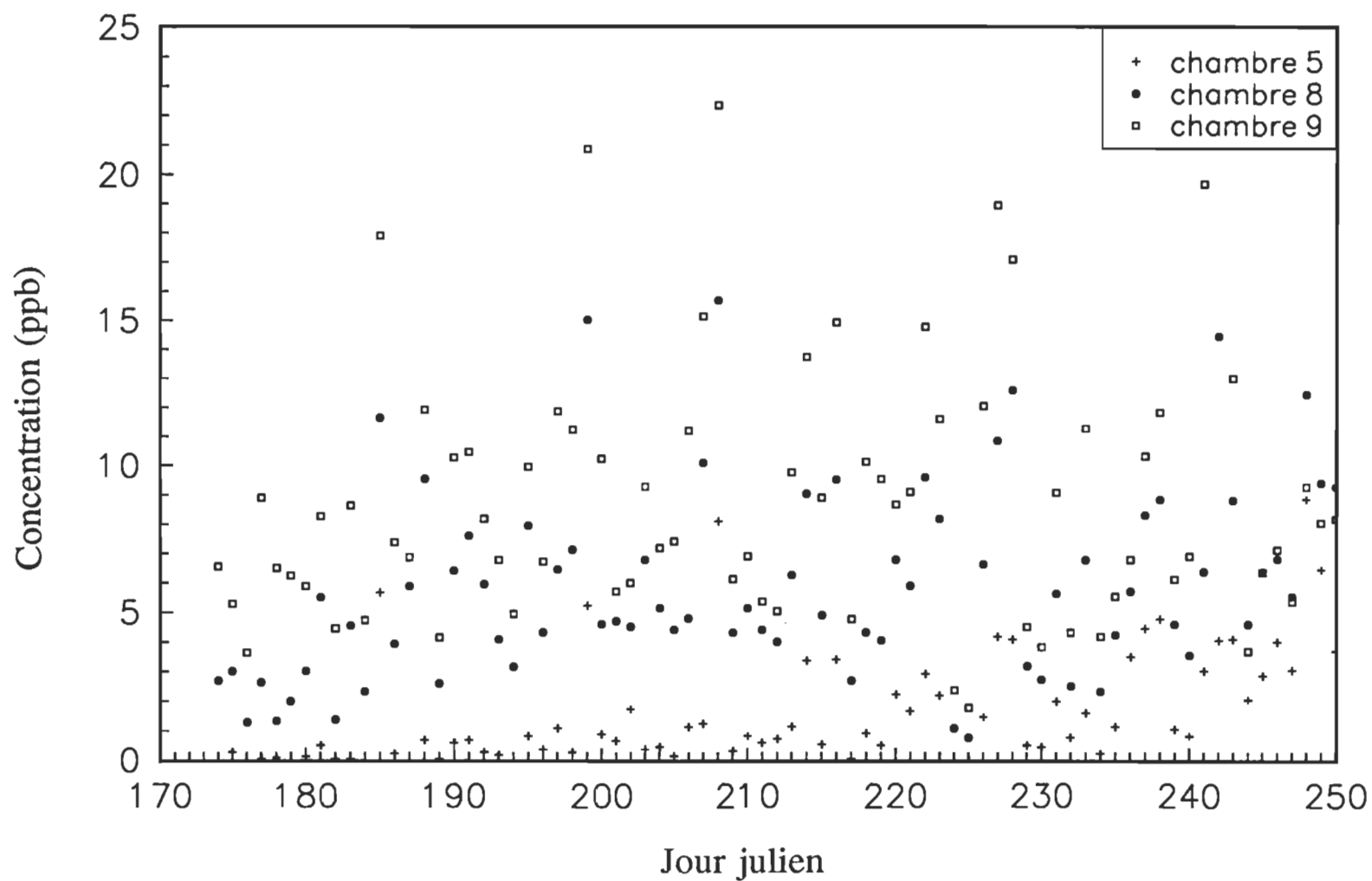


Figure 17. Concentration moyenne d'ozone à l'intérieur des chambres d'exclusion recevant de l'air filtré ($[O_3] \approx 0$ ppb) au cours de l'été 1989

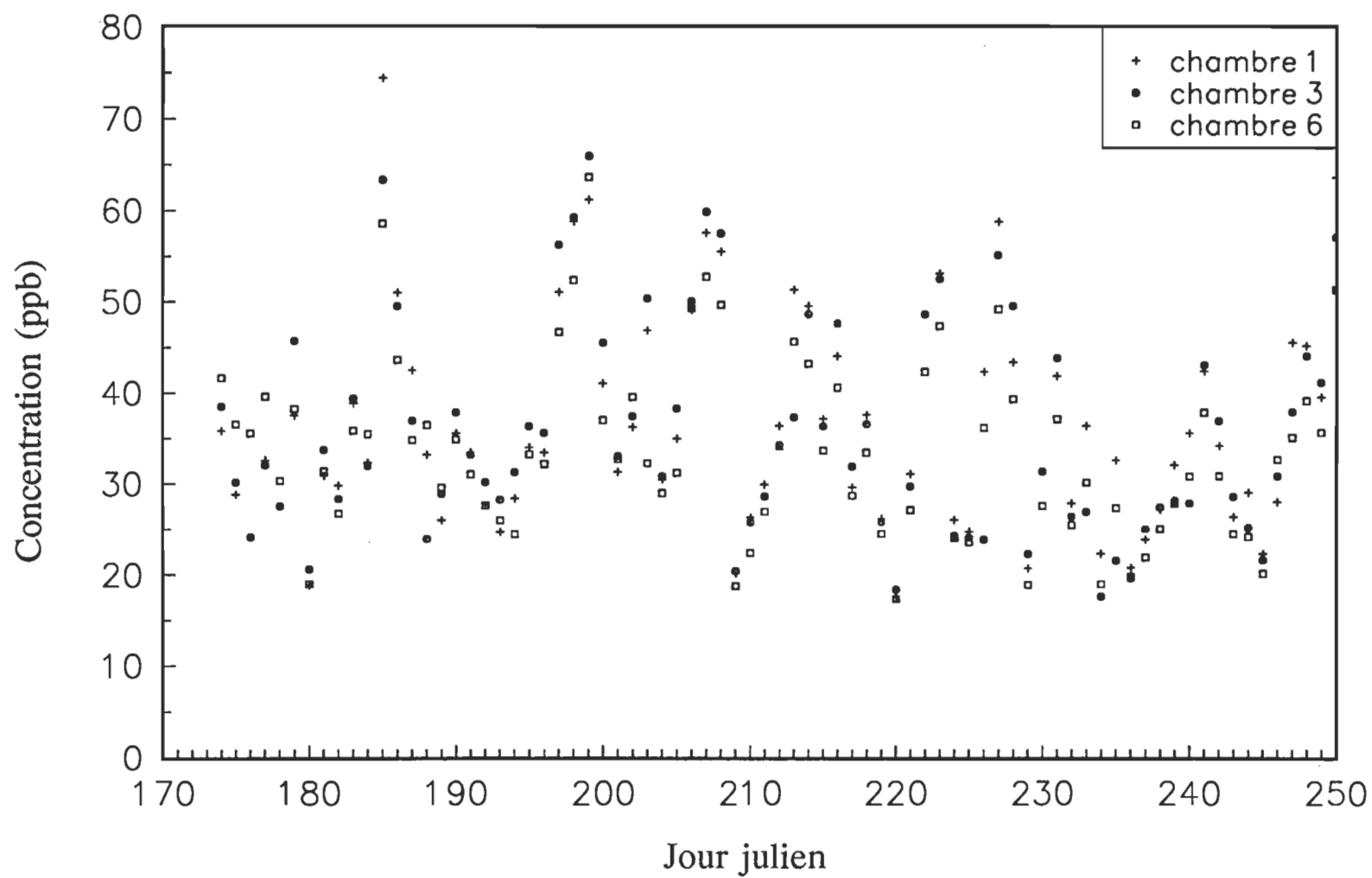


Figure 18. Concentration moyenne d'ozone à l'intérieur des chambres d'exclusion recevant de l'air ambiant ($[O_3] \approx \text{ambiante}$) au cours de l'été 1989

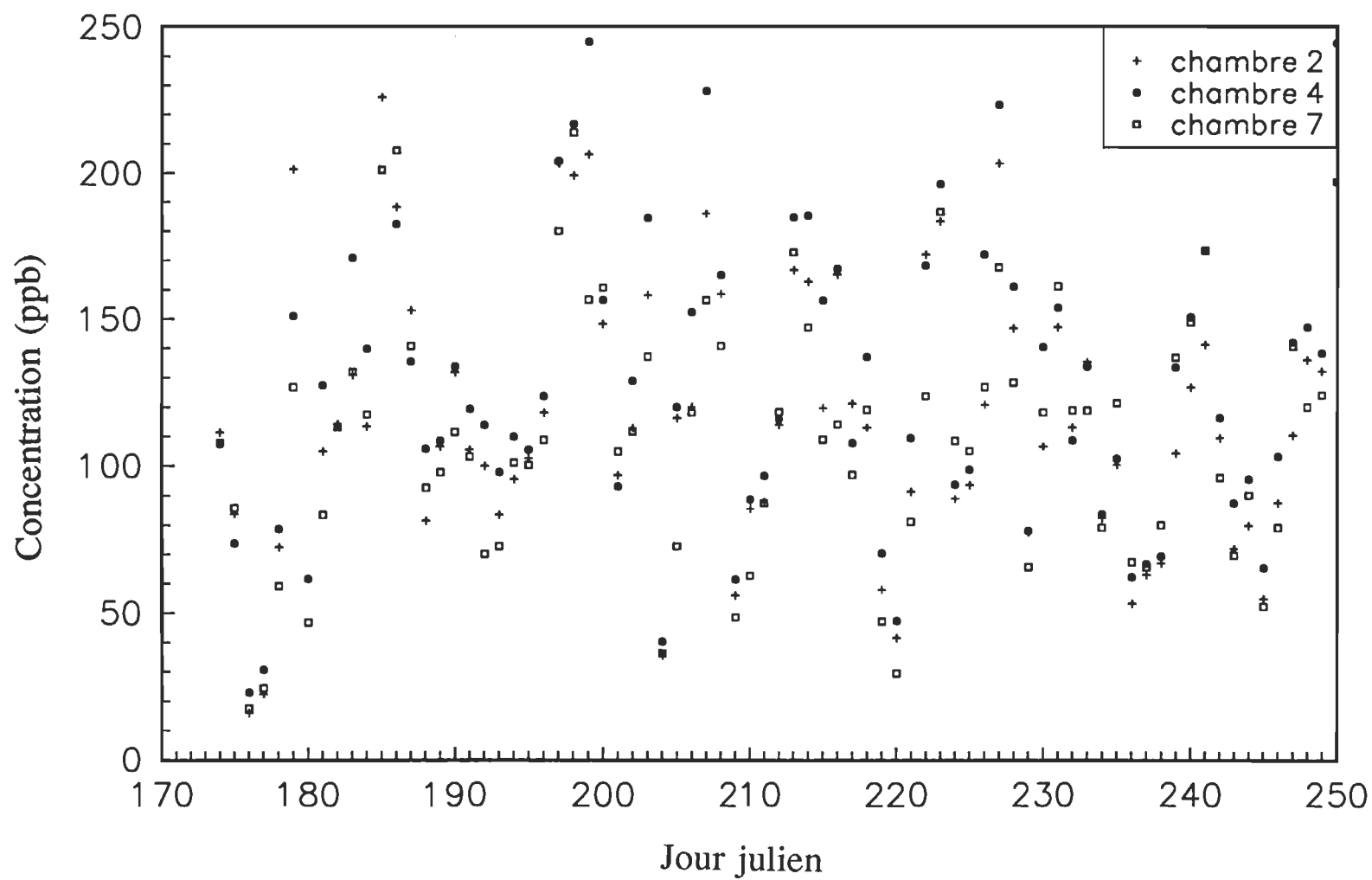


Figure 19. Concentration moyenne d'ozone à l'intérieur des chambres d'exclusion recevant de l'air enrichi ($[O_3] \approx 3 \times \text{ambiante}$) au cours de l'été 1989

Des disques, provenant de la troisième ou quatrième paire de feuille de plantules âgées de 11 à 14 jours, sont déposés sur une solution de sulfite de sodium préparée à partir d'un tampon phosphate (pH 5.9). Puisque les feuilles de pois poussent en paire, l'une d'elle sert de contrôle (tampon seulement), alors que l'autre subit le traitement (tampon + Na_2SO_3).

Nous avons vérifié l'effet d'une exposition d'une heure à l'obscurité ou en présence de lumière ($80 \pm 5 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ ou $400 \pm 25 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ de RPA) pour diverses concentrations d'ions sulfite. Suite au traitement, les disques de feuille sont séchés en surface au moyen d'un tissu et placés dans la cellule PA pour y être analysés.

Certains résultats ont été vérifiés dans nos laboratoires par le Dr Konka Veeranjanyulu au moyen de la spectroscopie par fluorescence. La description des principes de base de la technique de même que de l'équipement utilisé dépasse le cadre de ce travail. Vous pourrez cependant vous référer à l'article traitant de ces expériences (Veeranjanyulu *et al.*, 1992) ou à la thèse de Charland (1993) pour obtenir les informations concernant les détails relatifs aux mesures en spectroscopie par fluorescence.

D) Spectroscopie photoacoustique

1) Description de l'appareil

Les mesures d'activité photosynthétique (EEP), de dégagement d'oxygène A_{O_2} et de chaleur A_{T-m} ont été effectuées sur un appareil à simple faisceau fabriqué dans nos laboratoires (Ducharme *et al.*, 1979) et illustré schématiquement à la figure 20. Trois compo-

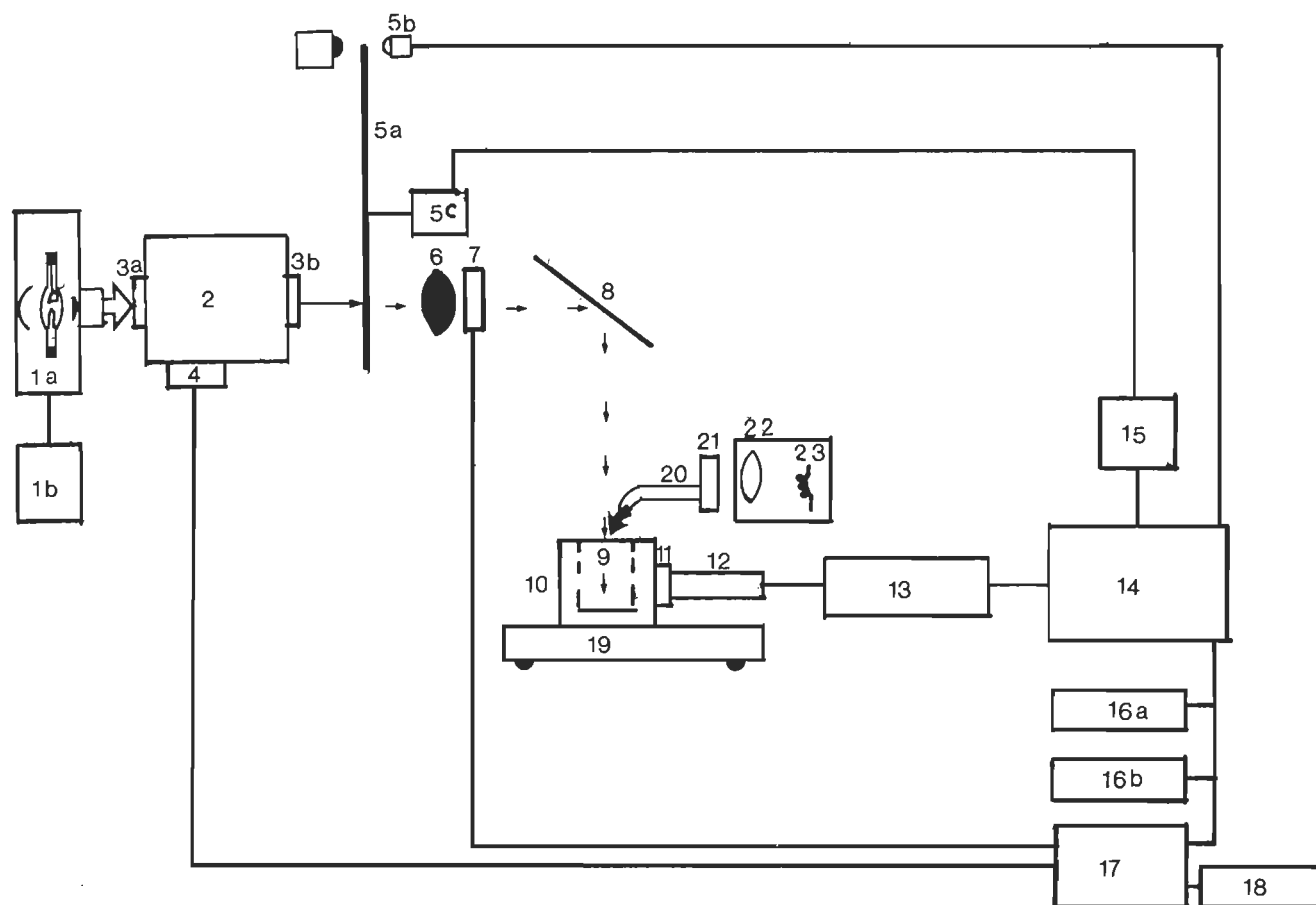


Figure 20. Représentation schématique du spectromètre photoacoustique

1a- lampe au xénon; 1b- source d'alimentation de la lampe; 2- monochromateur; 3a- fente d'entrée; 3b- fente de sortie; 4- sélecteur de longueur d'onde (motorisé et sous contrôle de l'ordinateur); 5a- disque de modulation (interchangeable); 5b- photodiode (transmet le signal de synchronisation à l'amplificateur); 5c- moteur; 6- lentille de focalisation; 7- filtre "passe-haut" (mise en place sous le contrôle de l'ordinateur); 8- miroir de focalisation; 9- cavité porte-échantillon; 10- cellule PA; 11- microphone; 12- adaptateur-préamplificateur; 13- préamplificateur; 14- amplificateur à verrouillage de phase; 15- unité de contrôle du disque-modulateur; 16a et b- tables enregistreuses; 17- ordinateur; 18- table traçante; 19- table anti-vibrations; 20- fibres optiques (en provenance de la lampe saturante); 21- porte-filtres; 22- filtre thermique; 23- lampe saturante. ↗ lumière polychromatique; → lumière monochromatique; → → lumière monochromatique modulée; ↘ lumière saturante (polychromatique et continue) (D'après Charland, 1993).

santes peuvent être distingués: la source lumineuse avec ses composantes optiques, la cellule de mesure, et le dispositif d'acquisition et de traitement du signal.

a) Source lumineuse

Elle consiste en une lampe au xénon de 1 000 W (modèle 976C1010; Canrad-Hanovia Inc., Newark, NJ) avec réflecteur parabolique incorporé, alimentée par une source de haute tension (modèle LPS 255; Schoeffel Instrument Corp., Westwood, NJ). Le faisceau de lumière polychromatique qu'elle produit est focalisé sur la fente d'entrée d'un monochromateur à réseaux (modèle GM 250; Schoeffel Instruments Corp., Westwood, NJ) présentant une dispersion linéaire de $3.3 \text{ nm}\cdot\text{mm}^{-1}$. Une fente d'entrée et une fente de sortie assurent le contrôle de l'intensité et de la qualité de la lumière qui en ressort. Cette sélection constitue un compromis entre l'intensité et la monochromaticité du faisceau. La longueur d'onde sélectionnée fut de 680 nm en accord avec les recommandations de Charland (1989).

Un modulateur mécanique permet de moduler le faisceau de lumière monochromatique dans le domaine des fréquences audibles (entre 10 et 1000 Hz). La variation de la fréquence peut se faire en modifiant la vitesse de rotation du disque modulateur et/ou en interchangeant les disques de modulation. Un moteur, relié à une source de tension variable (modèle Bentham 218F; Ithaco, Ithaca, NY) munie d'un indicateur de fréquence, assure la rotation d'un disque métallique constitué d'une alternance de secteurs pleins (2, 5 ou 10) et vides d'égales dimensions. Un signal de référence, nécessaire pour la synchronisation de l'amplificateur à verrouillage de phase, est produit par une photodiode située à la base du modulateur.

Lorsqu'utilisé conjointement avec notre type de lampe, le modulateur à disque se compare avantageusement au modulateur électronique (Renard & Lion, 1982). Cependant, les vibrations mécaniques qu'il produit à haute fréquence ($f > 500$ Hz) constituent une source de bruit qui peut nuire aux mesures. Nous n'avons cependant pas rencontré ce problème.

La lumière monochromatique modulée constitue notre faisceau d'analyse. Celui-ci est focalisé, au moyen d'une lentille convergente, sur un miroir concave d'une distance focale de 15 cm qui le réfléchit vers la cellule photoacoustique. Un filtre passe-haut (modèle GG455; Schott, Watford, UK), peut être introduit dans le trajet optique entre la lentille et le miroir. L'introduction, manuelle ou sous contrôle d'un ordinateur, s'effectue aux $\lambda \geq 500$ nm afin d'éliminer les harmoniques des longueurs d'onde.

b) Cellule ou enceinte photoacoustique

L'échantillon est enfermé dans une cellule photoacoustique de 2.63 cm³ de volume interne (Ducharme *et al.*, 1979). Conçue et fabriquée dans nos laboratoires, cette cellule hermétique¹ est munie d'un couvercle amovible qui permet l'introduction de l'échantillon. Le couvercle est constitué d'un support en aluminium dans lequel viennent s'insérer deux fenêtres en quartz maintenues en place au moyen de taures en laiton. Des rondelles circulaires en Buna N assurent l'étanchéité du montage. C'est par ces fenêtres en quartz, qui présentent une absorbance négligeable dans la portion visible du spectre électromagnétique, que passe le faisceau d'analyse et la lumière saturante. Un couvercle semblable constitue le fond de la cellule.

1 Le principe même de détection oblige cette étanchéité de la cellule.

Un écrou latéral, localisé sur le corps de la cellule, communique avec l'intérieur de celle-ci et permet la manipulation du couvercle sans endommager le microphone. Le microphone, du type condensateur-électret (modèle 1971-9601; General Radio Co., Concord, MA), capte les signaux transmis de l'intérieur de la cellule par un canal percé dans la cellule.

c) Dispositif d'acquisition et de traitement du signal

L'onde acoustique est transformée en un signal électrique qu'un préamplificateur-adaptateur (modèle 1972-9600; General Radio Co., Concord, MA) amplifie une première fois. Le signal subit une seconde amplification dans une unité d'amplification fabriquée dans nos laboratoires (Ducharme *et al.*, 1979) contenant un filtre passe-haut (15 Hz) avant d'être acheminé à un amplificateur à verrouillage de phase (modèle 393; Ithaco-Dynatrac, Ithaca, NY). Une table anti-vibrations (modèle TLI-386; Technilab Instruments Inc., Pequannock, NJ), sur laquelle est montée la cellule, procure une isolation adéquate des vibrations de milieu.

Avec ce montage PA, il est possible de distinguer les composantes en phase et en quadrature ainsi que le module et la phase du signal amplifié. Le dispositif électronique assure une acquisition suffisamment rapide du signal pour permettre un balayage spectral tout en conservant le rapport signal/bruit (S/B) à une valeur acceptable. Le signal total ainsi que ses deux composantes peuvent être tracés sur une ou deux tables enregistreuses (modèle 555; Linear Instruments Corp., Reno, NE) ou mis en mémoire sur disque magnétique pour traitement ultérieur au moyen d'un micro-ordinateur (Apple IIe; Apple Computer, Cupertino, CA).

En plus de l'acquisition des données relatives au signal PA à des longueurs d'onde fixes, le système permet également d'effectuer des spectres dans le domaine du

visible. L'acquisition des spectres se fait au moyen de l'ordinateur qui contrôle le moteur du monochromateur, le positionnement du filtre passe-haut, la mise en mémoire et le traitement des spectres. La correction des spectres bruts se fait en divisant ce dernier par le spectre d'un corps noir (généralement un disque de tissu) obtenu dans des conditions expérimentales identiques. Diverses opérations mathématiques (division, soustraction et normalisation à une longueur d'onde donnée) peuvent être réalisées sur les spectres mis en mémoire au moyen d'un programme écrit en langage BASIC. Une table traçante (modèle Hiplot, Houston Instruments, Austin, TX) permet l'obtention de copies sur papier des spectres.

Une source de lumière blanche non modulée (lumière saturante) peut être utilisée au besoin afin de saturer la photosynthèse. Cette lumière, d'intensité variable (de 0 à $500 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$)¹, produite par une lampe de type tungstène-halogène (modèle EKE; GTE Sylvania Canada Limited, QC) est dirigée sur l'échantillon, via les fenêtres supérieures de la cellule, au moyen d'un faisceau de fibres optiques de verre (3.0 mm diamètre). Un filtre thermique, localisé dans le boîtier de la lampe, entre celle-ci et l'une des extrémités du faisceau de fibres optiques, réduit l'échauffement éventuel de l'échantillon. Un régulateur de tension, fabriqué dans nos laboratoires, permet le contrôle de l'intensité lumineuse. Des filtres de densité neutre (Laser Energy Inc., Rochester, NY) peuvent également être introduits entre le filtre thermique et le faisceau de fibres optiques et assurer une plus grande souplesse dans le réglage de l'intensité lumineuse.

L'amplitude des diverses composantes a été calculée selon la méthode proposée par Poulet *et al.* (1983) après correction pour l'emmagasinement d'énergie mesuré à 256 Hz pour l'érable à sucre et à une fréquence supérieure à 400 Hz pour le pois. Une description détaillée

1 L'intensité maximale de $500 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ correspond à environ $1300 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ de RAP.

de la procédure utilisée pour l'analyse vectorielle du signal PA a été présentée au chapitre précédent.

Les mesures d'intensité lumineuse ont été effectuées au moyen d'un radiomètre/photomètre (modèle LI-189; LI-COR, Inc., Lincoln, NE) équipé d'une sonde quantique (modèle LI-190SA; LI-COR, Inc., Lincoln, NE) ou d'une sonde pyranométrique (modèle LI-200SA; LI-COR, Inc., Lincoln, NE).

2) Conditions expérimentales

Les disques de feuille de 18 mm de diamètre, prélevé au moyen d'un des deux emporte-pièce fabriqués à cet effet, provenaient de feuilles ayant atteint leur pleine expansion. Dans le cas des semis employés lors des fumigations à court terme, nous avons utilisé les feuilles opposées de la deuxième ou troisième paire en partant de la base. Pour chacune des feuilles étudiées, un disque, prélevé à l'intersection de la nervure centrale et de la marge de la feuille, était analysé après la fumigation de contrôle. Après la fumigation de traitement, un autre disque était prélevé du côté opposé de la nervure centrale, à une position comparable à celle du disque témoin, et analysé immédiatement après le traitement.

Pour les fumigations à long terme, les feuilles étaient sélectionnées aléatoirement sur les sauvageons en rejetant celles qui présentaient des signes évidents de nécroses ou de contaminations non attribuables au traitement. Les disques provenaient d'une portion du limbe située à la base de la feuille entre la nervure centrale et une nervure secondaire. Un prélèvement similaire des disques a été effectué sur les feuilles provenant des arbres matures. Dans ces deux cas, les mesures PA étaient effectuées moins de 12 h après la collecte des feuilles.

Pour les fumigations à long terme, nous avons tenu compte du temps requis pour effectuer les mesures (voir plus loin) ainsi que de notre intention de suivre l'évolution des paramètres PA tout au long de la période de fumigation. Il en résulte que pour chacune des 12 semaines de mesures, deux séries de six feuilles ont fait l'objet de mesures en SPA (i.e.: deux traitements analysés chaque semaine). De cette façon, pour un traitement donné, des mesures ont été effectuées une semaine sur deux.

Dans tous les cas, les échantillons d'érables à sucre étaient exposés pour une période variant de 15 à 30 min à la lumière d'un projecteur. La lampe au tungstène-halogène (modèle ELH ou ENH; GTE Sylvania Canada Limited, Drummondville, QC) de cet appareil procure une lumière de qualité comparable à celle produite par le faisceau saturant.

Un filtre thermique, constitué d'un bassin d'eau, protégeait les échantillons contre un échauffement excessif. Lors de l'exposition à cette lumière, les disques de feuille étaient maintenus entre deux pièces d'essuie-tout (Kimwipe; Kimberley-Clark Corporation, Toronto, ON) humidifiées à l'eau distillée. Situés à environ 15 cm de la source lumineuse, les disques étaient soumis à une intensité lumineuse¹ d'environ $35 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$. Cette procédure rend le disque de feuille dans un état de photosynthèse stationnaire et nous évite une période d'induction alors que l'échantillon est dans la cellule PA. Les effets de cette induction sur la composante d'oxygène du signal PA de l'érable à sucre complique l'interprétation du signal (Charland *et al.*, 1992) et il est préférable d'effectuer les mesures lorsque la photosynthèse est stationnaire.

Avant l'introduction des échantillons, face supérieure orientée vers le faisceau d'analyse, trois lamelles de verre circulaires (modèle 12-546; Fisher Scientific Co., Montréal,

1 Cette intensité lumineuse correspond à environ $160 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ de RAP.

QC) sont déposées dans le fond de la cellule PA. Les conditions particulières sélectionnées lors des mesures diffèrent selon que l'on effectue une mesure de l'activité photosynthétique (λ fixe) ou un spectre (λ variable). Les paramètres notés sont: l'intensité et la longueur d'onde du faisceau d'analyse (680 nm), la fréquence de modulation (25, 250 ou 400 Hz) et, le cas échéant, l'intensité de la lumière saturante. Les valeurs de ces paramètres sont présentées au chapitre VI. D'autres paramètres, comme l'ouverture des fentes du monochromateur, ont également été notés sans cependant faire l'objet d'une mention systématique.

Pour revenir au temps nécessaire pour effectuer les mesures PA, suite aux recommandations du Dr Michel Havaux en visite dans nos laboratoires, nous avons déterminé les valeurs extrapolées à 0 Hz de la composante thermique maximum ainsi que de la composante d'oxygène dans le cas des spécimens provenant des chambres d'exclusion et des arbres matures. Cette méthode repose sur le fait que l'onde acoustique, produite par les désexcitations non-radiatives et/ou le dégagement d'oxygène, subit une atténuation exponentielle à partir de son point d'origine. Cette atténuation devient de moins en moins apparente à mesure que l'on diminue la fréquence de modulation. La façon de procéder consiste à effectuer des mesures à diverses fréquences de modulation. Nous avons utilisé 36, 49, 64, 81, 100 et 144 Hz. Les valeurs obtenues sont utilisées pour construire un graphe de $\ln(\text{paramètre})$ en fonction \sqrt{f} à partir duquel nous calculons la valeur extrapolée à 0 Hz du paramètre analysé.

Cette façon de procéder comporte l'inconvénient d'augmenter considérablement le temps requis pour l'analyse des disques de feuille. Pour cette raison, elle n'a pas été retenue lors des fumigations à court terme. Cependant, le fait qu'elle offre la possibilité de déceler un effet du traitement sur l'anatomie de la feuille (Havaux *et al.*, 1986, 1987a) méritait qu'on s'y attarde.

E) Détermination de l'ouverture des stomates

Bien que nous exerçons un bon contrôle sur les conditions de croissance et de fumigation, particulièrement au laboratoire, une question importante peut être posée. Les érables soumis aux divers traitements ont-ils vraiment "vu" la même concentration de polluant que celle mesurée? Pour tenter de répondre à cette question, nous devons vérifier si les conditions expérimentales ou les traitements eux-mêmes ont un effet sur l'ouverture des stomates. Pour ce faire, deux approches peuvent être considérées: l'approche indirecte qui consiste à mesurer la résistance stomatique au moyen d'un poromètre, et l'approche directe qui consiste à observer l'ouverture des stomates. Les mesures porométriques ne constituent pas une preuve directe du changement d'ouverture des stomates. En effet, d'autres facteurs, comme le changement dans la résistance au transfert des gaz¹ du parenchyme, peuvent intervenir sur les mesures. Cette incertitude dans les mesures et l'absence d'un tel appareil à notre disposition nous a obligé à adopter l'approche directe.

La petitesse des stomates ($\approx 10 \mu\text{m}$) proscrit l'utilisation de la loupe stéréoscopique. L'opacité de la feuille rend impossible l'observation directe au microscope. Le prélèvement d'un lambeau d'épiderme permet de contourner ce problème. Cependant, certaines plantes, comme l'érable à sucre, ne se prêtent pas vraiment à ce genre de manipulation qui, de plus, nous éloigne des conditions physiologiques idéales. En fait, il faut se garder de manipuler la feuille car des chocs mécaniques modérés suffisent souvent pour provoquer la fermeture des stomates. Dans une telle situation, il est d'usage de faire des répliques de la surface à examiner.

1 Il faut cependant mentionner que cette contribution de la résistance au transfert des gaz, aux mesures porométriques, peut fournir des informations supplémentaires sur l'absorption potentielle des polluants gazeux. Ces informations sont susceptibles de modifier les interprétations relatives à la concentration des polluants gazeux à l'intérieur de la feuille.

Deux variantes de la technique de micro-relief s'offrent alors à nous. La première consiste à appliquer une solution de collodion (Buscalioni & Pollacci, 1901) ou d'acétate de cellulose transparent (Sampson, 1961) sur la feuille. Une fois le film sec, une légère torsion du limbe foliaire permet de le retirer sans endommager la surface de la feuille. L'empreinte ainsi obtenue consiste en une image négative stable de la surface foliaire qui s'observe facilement sous le microscope. L'inconvénient principal de cette technique réside dans l'exposition de la feuille à des solvants d'influence indéterminée sur l'ouverture stomatique.

Pour éviter d'exposer la feuille à ces solvants, la deuxième variante fait appel à des matrices en silicone. En mélangeant adéquatement la base et son catalyseur, nous pouvons obtenir une pâte de consistance désirée que l'on applique sur la surface à observer. La polymérisation se termine après 2 à 3 min sans exposer la feuille à des solvants organiques. Le moule "négatif" ainsi obtenu sert alors de support pour l'acétate de cellulose qui permet d'obtenir une image "positive" de la surface foliaire. Nous avons exploré les deux alternatives.

Du vernis à ongle (acétate de cellulose) transparent a été appliqué sur une portion de la surface de la feuille à examiner. Quelques minutes plus tard (2 à 10 min selon l'humidité relative et la teneur en solvant du vernis), la réplique était suffisamment sèche pour son prélèvement et l'observation au microscope (grossissement variant entre 100 et 400 fois). La grande stabilité physique de cette empreinte négative de la surface de la feuille facilite grandement sa manipulation. Elle permet également d'effectuer l'observation au microscope à un moment ultérieur sans perte de détails.

Pour obtenir une empreinte positive, nous avons mélangé la base ("wash-base") et le catalyseur ("wash-catalyst") d'un polymère de faible viscosité (polyvinylsiloxane) utilisés en dentisterie (Mirror 1 Impression material Type 1 Low Viscosity, Kerr Co., subsidiary of Sybron

Corp., Romulus, MI). Rapidement, un mince film de ce mélange est déposé sur une lame de microscope contre laquelle il suffit de presser une portion de feuille. Une fois la polymérisation terminée, une empreinte positive s'obtient en recouvrant le "moule" avec de l'acétate de cellulose. Il suffit alors de procéder comme expliqué plus tôt.

F) Analyses statistiques

En langage mathématique, plus spécifiquement dans le domaine de l'analyse statistique, un échantillon désigne la fraction représentative d'une population choisie en vue d'un sondage ou d'une analyse mathématique. Nous sommes cependant plus familier avec une autre définition qui dit qu'un échantillon constitue une portion ou un fragment d'une chose capable d'en donner une idée d'ensemble. Cette seconde définition correspond à celle que nous avons utilisée dans les chapitres précédents. Cependant, dans les sections qui vont suivre une attention particulière a été portée afin d'éviter qu'il y ait confusion entre ces deux définitions. Pour cela, le terme spécimen désignera le disque de feuille alors que l'échantillon gardera son sens statistique.

Selon un rapport présenté au Ministère de l'Environnement de l'Ontario (McIlveen *et al.*, 1986), la taille de l'échantillon nécessaire pour une évaluation adéquate de la composition élémentaire des feuilles d'érable à sucre et du bouleau jaune serait de 10 feuilles pour certains éléments (P, Mg, Cu, Fe, Na, Zn, Al et Ni pour l'érable à sucre; K, Ca, Mg, Fe, Al, Ni pour le bouleau jaune). La taille de l'échantillon peut cependant s'élever à 60 feuilles pour d'autres éléments (Pb et Cd). À la lueur de ces résultats, nous avons choisi d'utiliser entre 10 et 20 feuilles pour nos mesures. Ce nombre est limité principalement par les dimensions et le nombre de feuilles mais surtout par le temps nécessaire pour effectuer les mesures.

Afin de déterminer si les différences observées dans les résultats sont attribuables au traitement, nous avons procédé à l'analyse statistique des résultats. Les calculs nécessaires pour l'évaluation des divers paramètres PA à partir des données brutes ainsi que le calcul des moyennes et des écarts-types ont été effectués au moyen du logiciel Lotus 1-2-3 version 2.01 (1986)(Lotus Development Corporation) programmés par l'auteur à cet effet. Pour les analyses statistiques, nous avons utilisés les logiciels EPISTAT version 2.2 (1986)(logiciel du domaine public) et SPSS version 2.04 (1990)(SPSS Inc., Chicago, IL).

Dans tous les cas, des tests préalables d'homogénéité de variance ont été effectués. Lorsque nécessaire, nous avons effectué une transformation de rang sur les données. Nous avons effectué des analyses de variances (ANOVA) sur nos données.

CHAPITRE VI

RÉSULTATS

Une fois que la chambre de fumigation (annexe I) et le protocole de production de semis d'érable à sucre (annexe II) étaient au point, il nous a été possible de procéder aux fumigations dans le laboratoire. Pour ce qui est des traitements effectués sur le terrain (chambres d'exclusion), une première constatation concerne la concentration moyenne d'ozone mesurée au champ. D'une valeur de 35 ppb (tableau 7), celle-ci se compare à celles observées dans des régions dites "non-polluées" (voir chapitre III). Cependant, la valeur maximale de 59 ppb indique la présence possible d'ozone d'origine anthropogénique. Les chambres 5, 8 et 9 recevaient de l'air filtré au charbon activé et ont présenté des concentrations (valeurs moyennes de 2, 6 et 9 ppb, respectivement) nettement inférieures à celle mesurée au champ (tableau 7). Les différences observées entre les concentrations moyennes d'ozone des chambres 5, 8 et 9 résultent vraisemblablement de la variabilité de l'efficacité des filtres au charbon activé. Les concentrations d'ozone dans les chambres recevant de l'air ambiant (1, 3 et 6) ont démontré une bonne similarité entre elles (36, 36 et 34 ppb, respectivement) et avec la valeur obtenue au champ (tableau 7). Finalement, les chambres recevant trois fois la concentration ambiante d'ozone (2, 4, et 7), avec des valeurs moyennes de 116, 129 et 111 ppb, ont présenté des rapports réels de 3.3, 3.7 et 3.2, respectivement (tableau 7). Ces rapports demeurent acceptables devant la difficulté posée par l'utilisation des chambres d'exclusion.

Les concentrations d'ozone maintenues dans ces structures présentent une variabilité supérieure à celle obtenue de la chambre de fumigation. Dans le cas des chambres d'exclusion, la variabilité de la concentration d'ozone est recherchée et elle représente un élément important

Tableau 7

Performances des chambres d'exclusion: concentrations journalières d'ozone

	Champ	Air filtré			Air ambiant			3 x ambiant		
Chambre		5	8	9	1	3	6	2	4	7
Moyenne (ppb)	35	2	6	9	36	36	34	116	129	111
Écart-type (ppb)	10	2	3	5	12	12	10	46	51	44
Coef. Varia. (%)	29	117	55	53	32	32	29	39	40	39
Maximum (ppb)	59	9	16	29	74	66	64	226	257	214
Minimum (ppb)	18	0	1	2	18	18	17	16	23	17

qui permet de reproduire des conditions plus près de celles prévalant dans la nature. Aucun contrôle sur la température et l'intensité lumineuse prévalant dans les chambres d'exclusion n'a été exercé.

A) Paramètres utilisés lors des mesures en spectroscopie photoacoustique

Les paramètres expérimentaux choisis lors des mesures en SPA reposent, en partie, sur les travaux de Charland (1989). Partant des valeurs obtenues par cet auteur, nous avons déterminé les conditions optimales pour le matériel utilisé. Les paramètres susceptibles d'affecter les mesures sont: 1- l'intensité (I_{mod}) et la longueur d'onde (λ_{mod}) du faisceau d'analyse; 2- l'intensité (I_{sat}) du faisceau saturant; 3- la fréquence de modulation (f_{mod}).

La figure 21A illustre l'effet de l'intensité du faisceau d'analyse (modulé) sur l'EEP de sauvages d'érable à sucre. Aux faibles intensités lumineuses, l'EEP présente une valeur maximale puis décroît en fonction d'une augmentation d' I_{mod} , comportement qui s'explique par

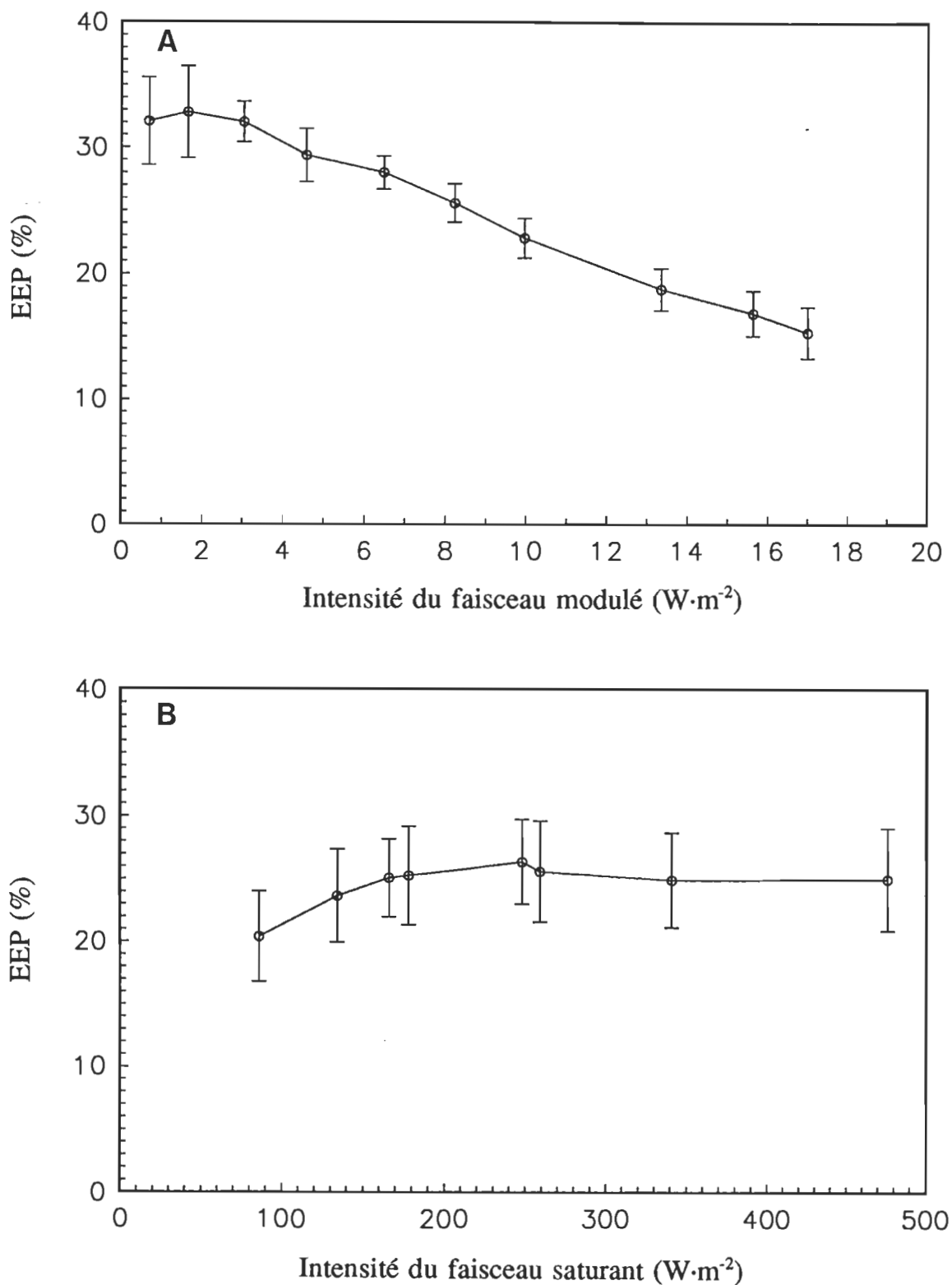


Figure 21. Effet de l'intensité lumineuse sur le signal photoacoustique de feuilles d'érable à sucre (sauvageons)

A) Variation de l'intensité du faisceau d'analyse (monochromatique et modulé)

$I_{\text{sat}} = 250 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$; $f_{\text{mod}} = 150 \text{ Hz}$. Moyenne de 10 mesures \pm écart-type.

B) Variation de l'intensité du faisceau saturant (polychromatique et continu)

$I_{\text{mod}} = 4.5 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$; $f_{\text{mod}} = 150 \text{ Hz}$. Moyenne de 10 mesures \pm écart-type.

une fermeture progressive des centres réactionnels. Notre intérêt étant de mesurer l'activité photosynthétique (EEP) maximum, nous devons donc opter pour une faible valeur d' I_{mod} . Cependant, une réduction de l'intensité du faisceau d'analyse entraîne une baisse appréciable du rapport S/B. Cette situation nous oblige donc à faire un compromis qui consiste à utiliser une valeur d' I_{mod} d'environ $4 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$. L'intensité mesurée au cours des expériences variait entre 3 et $5 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$. Cette variation découle des différences entre les diverses ampoules utilisées au cours des mesures et de leur vieillissement. Les mesures ont été effectuées à 680 nm. Ce choix repose sur le fait que cette longueur d'onde permet d'exciter efficacement les deux photosystèmes (PS I et PS II).

La relation entre l'EEP et I_{sat} est illustrée à la figure 21B. En tenant compte de la variabilité des résultats, une saturation complète de l'EEP s'observe à partir de $130 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$. L'échauffement du disque de feuille, présent dans la cellule PA, représente un problème concomitant à l'augmentation d' I_{sat} . Nous avons utilisé une intensité d' I_{sat} de $250 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ qui assure une saturation complète tout en limitant l'échauffement du disque de feuille.

Dans le cas des feuilles, une augmentation suffisante de la fréquence de modulation permet d'éliminer la composante d'oxygène. Cette composante abaisse artificiellement la valeur d'EEP, tel qu'illustré à la figure 22. Ainsi, aux fréquences inférieures à 100 Hz, nous pouvons observer une réduction appréciable de l'EEP. Pour l'érable à sucre, la composante d'oxygène se trouve généralement éliminée lorsque f_{mod} atteint une valeur d'environ 100 Hz. Dans ce cas, une augmentation de f_{mod} n'affecte pas la valeur d'EEP. La variabilité des mesures présentées à la figure 22 tient en partie de la persistance de la composante d'oxygène aux fréquences supérieures à 100 Hz chez plusieurs spécimens. Ceci nous a obligé à utiliser une fréquence de modulation de 250 Hz pour l'évaluation de l'EEP. Des vérifications de contrôle ont confirmé l'absence de dégagement d'oxygène à cette fréquence de modulation.

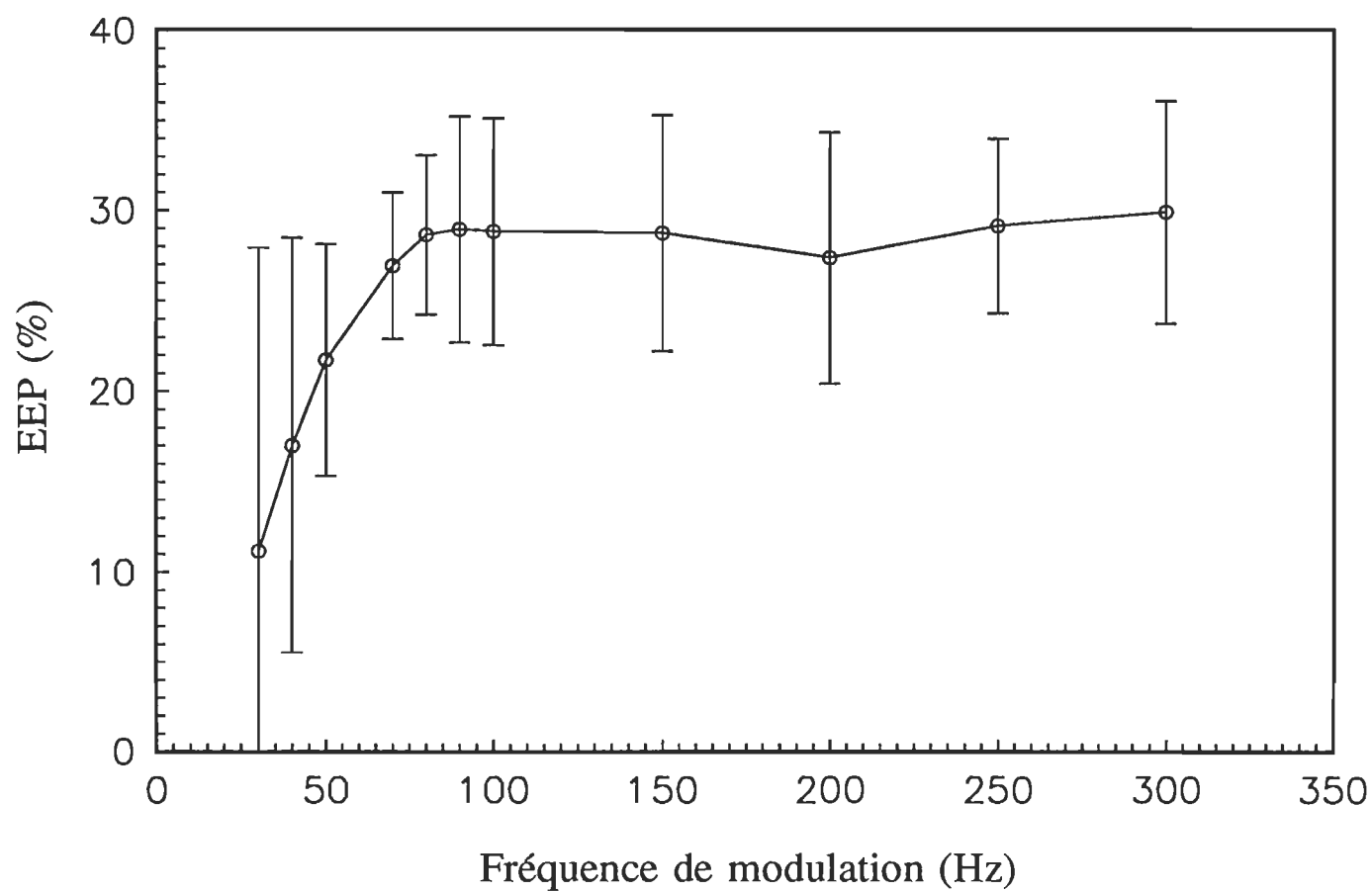


Figure 22. Effet de la fréquence de modulation sur l’emmagasiner d’énergie photosynthétique de feuilles d’érable à sucre (sauvageons)

Moyenne de 10 mesures \pm écart-type.

Pour résumer, la valeur des paramètres PA pour la plupart des mesures effectuées avec l'érable à sucre est: $I_{\text{mod}} = 3 \text{ à } 5 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$; $\lambda_{\text{mod}} = 680 \text{ nm}$; $I_{\text{sat}} = 250 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$; $f_{\text{mod}} = 250 \text{ Hz}$ pour évaluer l'EEP et 25 Hz pour évaluer la composante d'oxygène.

B) Effets de l'ozone sur l'activité photosynthétique de l'érable à sucre

Nous avons effectué les premières fumigations avec des semis. La valeur initiale de 50 ppb d'ozone correspond à la concentration observée dans des endroits peu pollués (voir chapitre III). Les autres concentrations ont été sélectionnées de façon à observer un effet significatif sur au moins un des paramètres PA. Nous avons augmenté la concentration entre 50 et 3000 ppb de la façon suivante: 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 et 3000 ppb.

La forme sous laquelle les données sont présentées a été conservée pour exprimer les résultats des tableaux 8 à 12. Quatre paramètres ont été mesurés directement (A_{Tm}) ou déduits mathématiquement des mesures PA (EEP, A_{O_2} et A_{O_2} normalisée)(voir équations 13 et 15). Nous avons opté pour une présentation en unités relatives (% par rapport au contrôle) ce qui facilite la comparaison des résultats. La moyenne ainsi que l'écart-type des effets mesurés figurent dans les tableaux. Par convention, 100 signifie que la valeur du paramètre mesuré est demeurée inchangée suite au traitement. Par conséquent, une valeur supérieure à 100 indique une stimulation (augmentation du paramètre) alors qu'une valeur inférieure à 100 témoigne d'une inhibition (réduction du paramètre). Les valeurs moyennes absolues de la composante thermique maximale, de l'emmagasiner d'énergie photosynthétique ainsi que de la composante d'oxygène des groupes contrôles sont présentées entre parenthèses. Il importe de mentionner, qu'à l'exception de l'EEP, les valeurs absolues des divers paramètres PA sont d'exploitation limitée. En effet, la valeur de ces paramètres dépend, entre autres, des caractéristiques des

diverses composantes du montage utilisé et plus particulièrement de la cellule photoacoustique (notre cellule est de fabrication maison). Les résultats des analyses statistiques sont également indiquées par un ^s lorsqu'une différence significative existe entre le groupe contrôle et le groupe fumigé. La lettre ^r indique qu'une transformation de rang a été effectuée sur les données afin de tenir compte de l'hétérogénéité de la variance.

1) À court terme

a) Semis

Nous présentons au tableau 8 les résultats des fumigations à court terme (4 h) effectuées sur les semis d'érable à sucre. À l'exception de l'EEP, il a été nécessaire d'effectuer une transformation de rang sur les paramètres PA afin de tenir compte de la non-homogénéité de la variance. Nous ne pouvons pas dégager de tendance concernant l'effet de l'ozone sur la composante thermique maximale. Bien que plusieurs des concentrations utilisées aient causé une augmentation mesurable de T^m par rapport aux contrôles, l'effet de l'ozone sur ce paramètre semble indépendant de la concentration.

La stabilité d' A_{T^m} est importante pour l'évaluation de l'emmagasiner d'énergie photosynthétique et de la composante d'oxygène qui dérivent d'opérations mathématiques impliquant T^m . La composante thermique maximum présente un coefficient de variation moyen d'environ 23% ($n = 15$, résultats non-présentés) pour l'ensemble des groupes de 10 disques contrôles du tableau 8. Le traitement ne semble pas affecter la variabilité de ce paramètre (coefficient de variation de 24% pour l'ensemble des groupes de disques traités).

Tableau 8

Variation des paramètres PA de semis d'érable à sucre suite à une fumigation à l'ozone de courte durée (4 h): effet de la concentration

	50 ppb	100 ppb	200 ppb	500 ppb	1000 ppb	2000 ppb	3000 ppb
$A_{T^m}^r$	114 ± 24 (1.3 x 10 ⁻³ V)	94 ± 28 (1.2 x 10 ⁻³ V)	116 ± 38 (1.0 x 10 ⁻³ V)	100 ± 25 (1.1 x 10 ⁻³ V)	115 ± 37 (1.1 x 10 ⁻³ V)	105 ± 30 (1.4 x 10 ⁻³ V)	151 ± 83 (1.0 x 10 ⁻³ V)
EEP	104 ± 14 (21.4%)	97 ± 17 (24.6%)	97 ± 19 (27.2%)	102 ± 18 (26.7%)	82 ± 28 ^s (26.0%)	65 ± 39 ^s (27.4%)	62 ± 27 ^s (22.9%)
$A_{O_2}^r$	120 ± 71 (4.2 x 10 ⁻⁴ V)	103 ± 35 (3.7 x 10 ⁻⁴ V)	83 ± 27 (6.0 x 10 ⁻⁴ V)	105 ± 86 (4.5 x 10 ⁻⁴ V)	59 ± 41 (4.9 x 10 ⁻⁴ V)	46 ± 24 (4.2 x 10 ⁻⁴ V)	60 ± 32 (2.5 x 10 ⁻⁴ V)
(A_{O_2}/A_{T^m})	109 ± 70	117 ± 51	78 ± 36	107 ± 80	57 ± 44	48 ± 25	50 ± 34

Moyenne de 20 mesures ± écart-type. Valeurs exprimées en pourcentage (%) du contrôle.

^s différence significative à $p < 0.05$ pour les variables A_{T^m} , EEP et A_{O_2} .

L'EEP, dont la valeur moyenne varie entre 21 et 27% chez les contrôles, ne présente une réduction significative qu'à 1000 ppb ou plus d'ozone, concentrations nettement supérieures à celles mesurées dans la nature, même dans les endroits les plus pollués. Il ne semble pas exister de relation simple entre l'inhibition de l'EEP et la concentration d'ozone. Tout comme pour la composante thermique maximum, l'effet du traitement sur l'EEP présente une variabilité pouvant être considérable (coefficients de variation variant entre 14 et 60%).

L'inhibition de la composante d'oxygène observée aux concentrations ≥ 1000 ppb est plus importante que celle obtenue avec l'EEP mais n'est cependant jamais significative. Cette situation tient probablement de la variabilité dans la réponse des spécimens au traitement. En effet, les coefficients de variation des effets de l'ozone sur le composante d'oxygène se situent entre 33 et 82%, valeurs plutôt importantes. D'ailleurs, même les valeurs absolues d' Ao_2 des contrôles présente une grande variabilité (facteur de 2.4 du plus petit au plus grand) d'un lot de plantules à l'autre (tableau 8). Aucune information supplémentaire ne peut être tirée de la composante d'oxygène normalisée. La variabilité dans la réponse aux diverses concentrations d'ozone utilisées constitue probablement le problème le plus important auquel nous avons fait face. Ainsi, le coefficient de variation de l'EEP ($n = 20$) est de 16% pour le groupe contrôle mais 47% pour le groupe traité (3000 ppb, résultats non-présentés)

b) Sauvageons

Suite aux résultats obtenus avec les semis, indiquant une grande résistance de l'érable à sucre, nous avons vérifié si tel était le cas pour des sauvageons âgés entre 5 et 7 ans. Puisqu'aucun effet significatif n'a pu être observé aux concentrations inférieures à 1000 ppb, nous avons limité notre analyse aux concentrations suivantes: 500, 1000, 2000 et 3000 ppb.

D'après nos résultats (tableau 9), il appert que les sauvageons présentent une résistance supérieure à celle démontrée par les semis. Tout comme pour ces derniers, la composante thermique maximum n'est pas affectée de façon significative par le traitement. Une différence notable entre ces deux groupes de plantes s'observe au niveau de la variabilité dans la réponse d' A_{Tm} au traitement. L'effet d'une fumigation à 3000 ppb d'ozone varie considérablement moins chez les sauvageons (coefficient de variation de 14%) que chez les semis (coefficient de variation de 55%). Cette moindre variabilité s'observe également dans la réponse des autres paramètres étudiés. Il aura fallu 3000 ppb d'ozone pour réduire significativement l'EEP chez les sauvageons comparativement à 1000 ppb pour les semis. La composante d'oxygène, mesurée suite à une fumigation à 3000 ppb d'ozone, présente une réduction significative alors que la composante d'O₂ normalisée n'est pas affectée de façon significative par les traitements. Cette observation permet de questionner la pratique qui consiste à normaliser la composante d'oxygène. Dans ce cas particulier, l'opération mathématique introduit une source supplémentaire de variabilité qui rend non-significative l'effet observé.

Nos résultats indiquent une plus grande sensibilité à l'ozone chez les semis que chez les sauvageons dont le seuil de sensibilité se situerait à environ 1000 et 3000 ppb, respectivement. Devant cette situation, nous nous sommes interrogés sur le fait d'effectuer les mesures PA immédiatement, ou au plus tard 8 h après la fumigation.

c) Effet du temps écoulé entre le traitement et les mesures

Afin de vérifier l'effet du temps écoulé entre le traitement et les mesures sur les paramètres PA, nous avons repris des fumigations de 1000 ppb avec des semis. Le choix

Tableau 9

Variation des paramètres PA de sauvageons d'érable à sucre suite à une fumigation à l'ozone de courte durée (4 h): effet de la concentration

	500 ppb	1000 ppb	2000 ppb	3000 ppb
A_{T^m}	105 ± 23 (2.2 x 10 ⁻³ V)	99 ± 16 (2.3 x 10 ⁻³ V)	103 ± 17 (2.0 x 10 ⁻³ V)	91 ± 13 (2.3 x 10 ⁻³ V)
EEP	105 ± 13 (23.8%)	111 ± 16 (23.0%)	98 ± 16 (27.8%)	84 ± 18 ^s (28.1%)
A_{O_2}	99 ± 38 (7.7 x 10 ⁻⁴ V)	121 ± 87% (7.7 x 10 ⁻⁴ V)	81 ± 31 (8.2 x 10 ⁻⁴ V)	68 ± 34 ^s (9.5 x 10 ⁻⁴ V)
(A_{O_2}/A_{T^m})	100 ± 48	122 ± 79	78 ± 25	74 ± 33

Moyenne de 20 mesures ± écart-type. Valeurs exprimées en pourcentage (%) du contrôle.

^s différence significative à $p < 0.05$ pour les variables A_{T^m} , EEP et A_{O_2} .

de cette concentration repose sur le fait qu'elle a produit une réduction significative de l'EEP chez ces derniers. Nous devrions ainsi être en mesure d'observer une récupération ou une aggravation de l'inhibition. Des mesures ont été effectuées immédiatement après la fumigation (comme pour les autres fumigations), 24, 48 et 96 h après celle-ci. Le nombre, de même que la surface des feuilles, ne nous permettaient pas d'effectuer des mesures de contrôle. Dans ce cas particulier, les valeurs des paramètres PA aux temps 24, 48 et 96 h ont été comparées à celles obtenues immédiatement après la fumigation (0 h) et non avec celles des contrôles. De plus, les valeurs entre parenthèses sont celles du groupe traité au moment spécifié.

En dépit d'une légère réduction, les résultats, présentés au tableau 10, démontrent l'absence de variation significative, au cours de cette période de temps, pour le paramètre T^m . L'EEP ne varie pas significativement dans le temps. Cela tient probablement de la grande variabilité de l'effet du traitement (jusqu'à 41% de variation à $T = 24$ h) qui rend

Tableau 10

Variation des paramètres PA de semis d'érable à sucre suite à une fumigation de 1000 ppb d'ozone de courte durée (4 h): effet du temps écoulé entre la fumigation et les mesures

	0 h	24 h	48 h	96 h
A_{T^m}	- (1.8×10^{-3} V)	100 ± 18 (1.8×10^{-3} V)	97 ± 20 (1.7×10^{-3} V)	89 ± 19 (1.6×10^{-3} V)
EEP	- (16.4%)	101 ± 41 (15.6%)	111 ± 41 (17.0%)	105 ± 25 (16.8%)
A_{O_2}	- (2.6×10^{-4} V)	147 ± 78 (3.3×10^{-4} V)	156 ± 126 (3.4×10^{-4} V)	131 ± 66 (3.0×10^{-4} V)
(A_{O_2}/A_{T^m})	-	151 ± 84^s	162 ± 112^s	156 ± 94^s

Moyenne de 20 mesures \pm écart-type. Valeurs exprimées en pourcentage (%) du contrôle.

^s différence significative à $p < 0.05$ pour les variables A_{T^m} , EEP et A_{O_2} .

non-significative les faibles augmentations observées. En dépit d'une augmentation appréciable, de 31 à 56%, nous avons été incapables d'établir une différence significative de la composante d' O_2 (comparaison entre les mesures au temps x et au temps 0). Cependant, la composante d'oxygène normalisée au temps $T = 24$ h est significativement supérieure à celle mesurée immédiatement après la fumigation ($T = 0$ h). Dans ce cas, la normalisation de la composante d'oxygène a l'effet contraire à celui rapporté au tableau 9 (3000 ppb).

Nous avons également vérifié l'effet de la durée des fumigations en conservant à l'esprit notre définition de courte durée (8 h ou moins). La comparaison entre un traitement de 4 h et de 8 h à 1000 ppb d'ozone est présenté au tableau 11. La valeur des paramètres PA pour la fumigation de 4 h provient du tableau 8. Dans les deux cas, la composante thermique maximum ne varie pas de façon significative par rapport aux contrôles.

Tableau 11

Variation des paramètres PA de semis d'érable à sucre suite à une fumigation de 1000 ppb d'ozone de courte durée (4 h) ou de moyenne (8 h) durée

	1000 ppb 4 h	1000 ppb 8 h
A_{T^m}	115 ± 37 (1.1 x 10 ⁻³ V)	96 ± 21 (2.3 x 10 ⁻³ V)
EEP	82 ± 28 ^s (26.0%)	88 ± 19 (26.7%)
A_{O_2}	59 ± 41 (4.9 x 10 ⁻⁴ V)	94 ± 41 (8.5 x 10 ⁻⁴ V)
(A_{O_2}/A_{T^m})	57 ± 44	99 ± 37

Moyenne de 20 mesures ± écart-type. Valeurs exprimées en pourcentage (%) du contrôle.

^s différence significative à $p < 0.05$ pour les variables A_{T^m} , EEP et A_{O_2} .

De façon surprenante, l'EEP qui présente une réduction significative suite à la fumigation de 4 h, ne diffère plus significativement de celui des contrôles dans le cas du traitement de 8 h. Ce point indiquerait que la concentration de 1000 ppb serait près du seuil réel de sensibilité à l'ozone des semis d'érable à sucre. De plus, la composante d'oxygène qui démontrait jusqu'à présent une sensibilité au traitement supérieure à celle des autres paramètres PA, semble indifférente à la fumigation de 8 h. Nous ne croyons pas que cette différence de sensibilité puisse être attribuée à des variations dans les conditions environnementales maintenues lors des fumigations. L'état physiologique des semis utilisés peut cependant avoir influencé leur sensibilité à l'ozone. Ce point serait supporté par le comportement de la composante d'oxygène qui est pratiquement deux fois plus grande chez les contrôles du groupe 8 h comparativement aux contrôles du groupe 4 h. Cependant, l'EEP des deux groupes ne diffère pratiquement pas d'un groupe à l'autre.

d) Effet de l'intensité lumineuse lors de la fumigation

Le choix de l'intensité lumineuse prévalant lors des fumigations dépendait, entre autres, des conditions de croissance des semis. Ainsi, une intensité lumineuse d'environ $85 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, valeur comparable à celle mesurée dans la chambre de croissance, fut utilisée pour l'ensemble des fumigations (semis et sauvageons). Ce choix limitait les chances d'un stress lumineux chez les semis. Dans le cas des sauvageons, une période d'attente de 30 min assurait leur adaptation à ce nouvel environnement lumineux. Il demeurerait néanmoins intéressant de vérifier l'effet d'une augmentation importante de l'intensité lumineuse sur la toxicité de l'ozone.

Nous présentons au tableau 12 les effets d'une augmentation d'environ 2.5 fois l'intensité lumineuse normalement utilisée lors des fumigations. La valeur des paramètres PA pour la fumigation de 4 h provient du tableau 8. La composante T^m démontre une légère augmentation (non-significative) attribuable, vraisemblablement, aux variations intra-spécifiques. L'EEP semble légèrement affecté par l'augmentation de l'intensité lumineuse, sans toutefois manifester de variation significative par rapport au contrôle. Bien que la composante d'oxygène présente une réduction, suite à la fumigation sous "haute" intensité lumineuse, l'inhibition observée n'est pas significative. Cette composante du signal PA demeure la plus variable.

Il semble y avoir une réduction de l'inhibition attribuable à l'ozone lorsque l'on augmente l'intensité lumineuse lors de la fumigation. Des difficultés expérimentales, particulièrement l'échauffement des plantules, ne nous ont pas permis d'augmenter davantage la quantité de lumière présente lors des fumigations. Il faut cependant garder à l'esprit que des intensités lumineuses nettement supérieures (jusqu'à $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$) à celles utilisées lors

Tableau 12

Variation des paramètres PA de semis d'érable à sucre suite à une fumigation de 1000 ppb d'ozone de courte durée (4 h): effet de l'intensité lumineuse

	"Faible" 85 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$	"Haute" 215 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$
A_{T^m}	115 \pm 37 (1.1 x 10 ⁻³ V)	107 \pm 36 (1.3 x 10 ⁻³ V)
EEP	82 \pm 28 ^s (26.0%)	93 \pm 32 (20.0%)
A_{O_2}	59 \pm 41 (4.9 x 10 ⁻⁴ V)	71 \pm 42 (2.4 x 10 ⁻⁴ V)
(A_{O_2}/A_{T^m})	57 \pm 44	72 \pm 46

Moyenne de 20 mesures \pm écart-type. Valeurs exprimées en pourcentage (%) du contrôle.

^s différence significative à $p < 0.05$ pour les variables A_{T^m} , EEP et A_{O_2} .

de cette expérience s'observent régulièrement sur le terrain. Les mesures effectuées sur les sauvages maintenus dans les chambres d'exclusion tiennent compte de ce point comme nous le verrons dans la prochaine section.

2) À long terme

Nos données brutes nous permettent d'affirmer que, dans l'ensemble, les coefficients de corrélation des droites pour $\ln(\text{paramètre})$ en fonction de \sqrt{f} sont excellents pour T^m (R^2 presque toujours supérieurs à 0.95, résultats non-présentés). Occasionnellement, la composante de dégagement d'oxygène donne des coefficients pouvant s'éloigner considérablement de l'unité (jusqu'à 0.4). Ce point traduit fort probablement la complexité de cette composante

ainsi que sa faible amplitude. Les mauvais coefficients de corrélation obtenus avec la composante d'oxygène ont affecté notre évaluation de la composante d'oxygène normalisée.

Devant la variabilité temporelle des paramètres PA, nous avons décidé de ne pas présenter les données du tableau 13 sous forme comparative. Ainsi, A_{7m} et A_{O_2} sont exprimées en mV. La composante d'oxygène normalisé n'a pas d'unité. Enfin, l'EEP représente la fraction, en pourcent, de l'énergie lumineuse absorbée utilisée pour la photosynthèse.

De façon générale, T^m semble diminuer au cours du temps chez les spécimens provenant des chambres contenant de l'air ambiant ou 3 fois la concentration ambiante d'ozone. Par contre, ce paramètre semble fluctuer de façon aléatoire dans le cas des érables soumis à de l'air filtré. L'EEP présente des variations importantes entre les périodes de mesure (2 semaines). Ainsi, dans le cas des érables provenant des chambres contenant de l'air ambiant, l'EEP passe de 25% (26 juillet) à 17% (9 août) puis à 22% (23 août). Des variations semblables s'observent pour l'EEP des érables soumis à 3 fois la concentration ambiante d'ozone. L'EEP des érables d'air filtré et de l'enclos manifeste cependant un plus grande stabilité. Cette variation de l'EEP dans le temps rend difficile la comparaison entre les traitements. La valeur de l'EEP mesurée lors de la première semaine (14/6/89) pour les érables provenant des chambres contenant de l'air ambiant ou enrichi en ozone est particulièrement basse. Ce point traduit probablement un stress consécutif au transfert en pot des sauvageons.

La composante d'oxygène manifeste, dans tous les cas, un comportement erratique qui ne permet pas de déceler de tendance dans le temps ou en fonction des traitements. La situation se répète pour la composante d'oxygène normalisée. Les coefficients de variation de ces deux paramètres prennent parfois des valeurs qui excèdent 100%, indépendamment de l'application d'un traitement.

Tableau 13

Variation temporelle des paramètres PA de sauvageons d'érable à sucre suite à une fumigation à l'ozone de longue durée (1 saison): effet de la concentration

	14/6/1989	28/6/1989	12/7/1989	26/7/1989	9/8/1989	23/8/1989
$A_{T^m} (mV)^1$	20 ± 3	20 ± 2	14 ± 4	11 ± 2	10 ± 2	7 ± 3
$EEP (\%)$	7.0 ± 3.3	15.6 ± 6.5	19.1 ± 8.0	24.9 ± 4.9	16.6 ± 3.9	21.8 ± 4.5
$A_{O_2} (mV)$	5 ± 3	27 ± 23	11 ± 17	18 ± 30	6 ± 11	2 ± 2
(A_{O_2}/A_{T^m})	0.23 ± 0.17	0.14 ± 0.12	0.65 ± 0.85	1.69 ± 2.72	0.48 ± 0.92	0.21 ± 0.17
$A_{T^m} (mV)^2$	13 ± 5	17 ± 3	12 ± 2	10 ± 4	10 ± 2	9 ± 3
$EEP (\%)$	7.4 ± 4.8	12.9 ± 7.5	14.0 ± 3.7	26.4 ± 6.5	14.4 ± 3.8	22.6 ± 3.7
$A_{O_2} (mV)$	8 ± 5	14 ± 15	6 ± 7	16 ± 6	2 ± 2	8 ± 5
(A_{O_2}/A_{T^m})	0.66 ± 0.45	0.98 ± 1.19	0.49 ± 0.64	2.00 ± 1.00	0.25 ± 0.38	0.96 ± 0.64

Moyenne de 6 mesures \pm écart-type. ¹ Air ambiant; ² Air contenant 3 fois la concentration ambiante d'ozone.

Tableau 13

Variation temporelle des paramètres PA de sauvageons d'érable à sucre suite à une fumigation à l'ozone de longue durée (1 saison): effet de la concentration

	14/6/1989	28/6/1989	12/7/1989	26/7/1989	9/8/1989	23/8/1989
A_{T^m} (mV) ¹	20 ± 3	20 ± 2	14 ± 4	11 ± 2	10 ± 2	7 ± 3
EEP (%)	7.0 ± 3.3	15.6 ± 6.5	19.1 ± 8.0	24.9 ± 4.9	16.6 ± 3.9	21.8 ± 4.5
A_{O_2} (mV)	5 ± 3	27 ± 23	11 ± 17	18 ± 30	6 ± 11	2 ± 2
(A_{O_2}/A_{T^m})	0.23 ± 0.17	0.14 ± 0.12	0.65 ± 0.85	1.69 ± 2.72	0.48 ± 0.92	0.21 ± 0.17
A_{T^m} (mV) ²	13 ± 5	17 ± 3	12 ± 2	10 ± 4	10 ± 2	9 ± 3
EEP (%)	7.4 ± 4.8	12.9 ± 7.5	14.0 ± 3.7	26.4 ± 6.5	14.4 ± 3.8	22.6 ± 3.7
A_{O_2} (mV)	8 ± 5	14 ± 15	6 ± 7	16 ± 6	2 ± 2	8 ± 5
(A_{O_2}/A_{T^m})	0.66 ± 0.45	0.98 ± 1.19	0.49 ± 0.64	2.00 ± 1.00	0.25 ± 0.38	0.96 ± 0.64

Moyenne de 6 mesures ± écart-type. ¹ Air ambiant; ² Air contenant 3 fois la concentration ambiante d'ozone.

Nous avons finalement effectué des mesures afin de vérifier la capacité de la SPA à fournir des informations sur l'activité photosynthétique des feuilles d'arbre, en milieu naturel, déperis à divers niveaux. Nous présentons au tableau 14 les valeurs relatives (par rapport à celles d'un arbre '*sain*') des divers paramètres PA.

Une première constatation concerne T^m qui démontre une augmentation notable (38%) dans le cas de l'arbre présentant un dépérissement avancé. Dans le cas des arbres présentant un niveau de dépérissement intermédiaire ou avancé, l'EEP demeure pratiquement inchangé par rapport à celui d'un arbre '*sain*'. L'augmentation notable de T^m affecte donc de façon importante, dans le cas des arbres matures échantillonnés, la valeur de la composante d'oxygène normalisée. Ainsi, pour l'arbre présentant un niveau de dépérissement avancé, l'augmentation de T^m abaisse la composante d'oxygène normalisée alors que la composante d'oxygène était pratiquement similaire à celle de l'arbre non-dépéris. Malheureusement, le fait qu'un seul arbre par niveau de dépérissement ait été échantillonné ne nous permet pas de distinguer entre l'effet du dépérissement et les variations des paramètres mesurés attribuables au génotype.

C) Effets du bioxyde de soufre sur l'activité photosynthétique de l'érable à sucre

Parmi les objectifs initiaux, nous devions procéder à la fumigation d'érables à sucre avec du bioxyde de soufre suivant un protocole similaire à celui utilisé pour les fumigations à l'ozone. Après avoir observé la grande résistance de cette espèce à l'ozone, mais également devant la faible concentration de SO_2 en région rurale, nous avons modifié le protocole initial en utilisant qu'un nombre restreint de concentrations (tableau 15). De plus, nous y présentons que la valeur de deux paramètres PA: l'EEP et la composante d'oxygène normalisée.

Tableau 14

Variation des paramètres PA d'érables à sucre matures appartenant à des classes différentes de dépérissement

	Sain (0%)	Intermédiaire (40%)	Avancé (70%)
A_{T^m}	- (1.0×10^{-3} V)	127 ± 30 (1.2×10^{-3} V)	138 ± 25 (1.3×10^{-3} V)
EEP	- (33%)	102 ± 24 (33%)	96 ± 17 (31%)
A_{O_2}	- (1.0×10^{-3} V)	123 ± 32 (1.1×10^{-3} V)	99 ± 35 (0.9×10^{-3} V)
(A_{O_2}/A_{T^m})		99 ± 27	75 ± 38

Moyenne de 20 mesures \pm écart-type. Valeurs exprimées en pourcentage (%) du contrôle.

Tout comme pour l'ozone, les semis d'érable à sucre démontrent une grande résistance au bioxyde de soufre. L'EEP ainsi que la composante d'oxygène normalisée des semis présentent une réduction significative pour une concentration de 1000 ppb, seuil comparable à celui observé pour l'ozone. De plus, la composante d'oxygène normalisée manifeste une sensibilité supérieure au SO_2 comparativement à l'EEP. Cette différence s'observe pour l'ensemble des concentrations utilisées.

La réponse des sauvageons aux fumigations au SO_2 est intéressante. Noter qu'à la concentration de 50 ppb, le bioxyde de soufre provoque une augmentation significative de l'activité photosynthétique (sous forme d'EEP et de la composante d'oxygène normalisée) qui persiste quelque temps après la fumigation (≈ 3 h). L'augmentation mesurée pour ces deux paramètres, dans le cas des semis, est moins importante et non-significative. Nous avons

Tableau 15

Variation de l'EEP et d' A_{O_2} normalisée d'érables à sucre suite à une fumigation au bioxyde de soufre de courte durée (4 h): effet de la concentration

	50 ppb	100 ppb	500 ppb	1000 ppb	2000 ppb
$EEP (\%)$ ¹	111 ± 13	100 ± 15	91 ± 19	72 ± 23 ^s	62 ± 16 ^s
(A_{O_2}/A_{Tm})	109 ± 15	80 ± 30	81 ± 33	51 ± 25 ^s	33 ± 16 ^s
$EEP (\%)$ ²	115 ± 13 ^s	-	-	-	81 ± 9 ^s
(A_{O_2}/A_{Tm})	140 ± 17 ^s	-	-	-	54 ± 26 ^s

Moyenne de 17 mesures ± écart-type. Valeurs exprimées en pourcentage (%) du contrôle.

¹ semis; ² sauvageons. ^s différence significative à $p < 0.05$ pour les variables A_{Tm} , EEP et A_{O_2} .

mentionné, au chapitre III, l'effet stimulant que pouvait provoquer le SO_2 sur la photosynthèse. Il appert donc que la SPA est en mesure de détecter une telle stimulation de l'activité photosynthétique.

L'inhibition de l'emmagasiner d'énergie et de la composante d'oxygène normalisée provoquée suite à une fumigation avec 2000 ppb de SO_2 est moins importante pour les sauvageons que pour les semis (tableau 15). Cette résistance, supérieure chez les sauvageons, se compare à celle observée avec l'ozone.

Il convient de mentionner que, pour chacun des traitements au SO_2 , aucun dommage foliaire n'a été observé avant les mesures PA. De plus, le contenu en chlorophylles et en caroténoïdes des disques de feuilles n'a présenté aucune variation significative (Veeranjaneyulu *et al.*, 1991b).

D) Effets de l'ion sulfite sur l'activité photosynthétique du pois

La grande résistance de l'érable à sucre à l'ozone et au bioxyde de soufre entravait sérieusement notre intention d'étudier leurs mécanismes d'action. Le recours à une plante sensible, le pois, a permis de remédier à cette situation. Puisque les ions sulfite constituent un intermédiaire important dans la manifestation de la phytotoxicité du bioxyde de soufre, nous avons étudié l'effet du sulfite de sodium sur l'activité photosynthétique des feuilles de pois.

La figure 23 illustre les effets d'un traitement d'une heure au sulfite de sodium. Noter que les échelles de concentrations sont différentes pour la figure 23A et B. Une première observation concerne la différence de sensibilité des feuilles de pois selon que le traitement a lieu en présence de lumière (figure 23A) ou à l'obscurité (figure 23B). Alors que dans le premier cas (en présence de lumière) une concentration de 25 mM de Na_2SO_3 suffit pour induire une inhibition d'environ 50% de l'EEP et d' Ao_2 normalisée une concentration de 100 mM est nécessaire dans le second (à l'obscurité). Ce point indique donc une sensibilité différente selon que le polluant agit en présence de lumière ou à l'obscurité. Dans les deux cas, l'importance de l'inhibition dépend de la concentration d'ions sulfite.

La comparaison de la figure 23A et B permet également de remarquer que l'EEP et la composante d'oxygène normalisée manifestent une sensibilité comparable en fonction de la concentration en présence de lumière (figure 23A). Par contre, la composante d'oxygène normalisée présente une plus grande résistance que l'EEP lorsque le traitement a lieu en absence de lumière (figure 23B).

Afin de vérifier l'implication possible du PS II, dans l'inhibition observée en présence d'ions sulfite, nous avons enregistré les cinétiques d'induction de fluorescence pour des disques

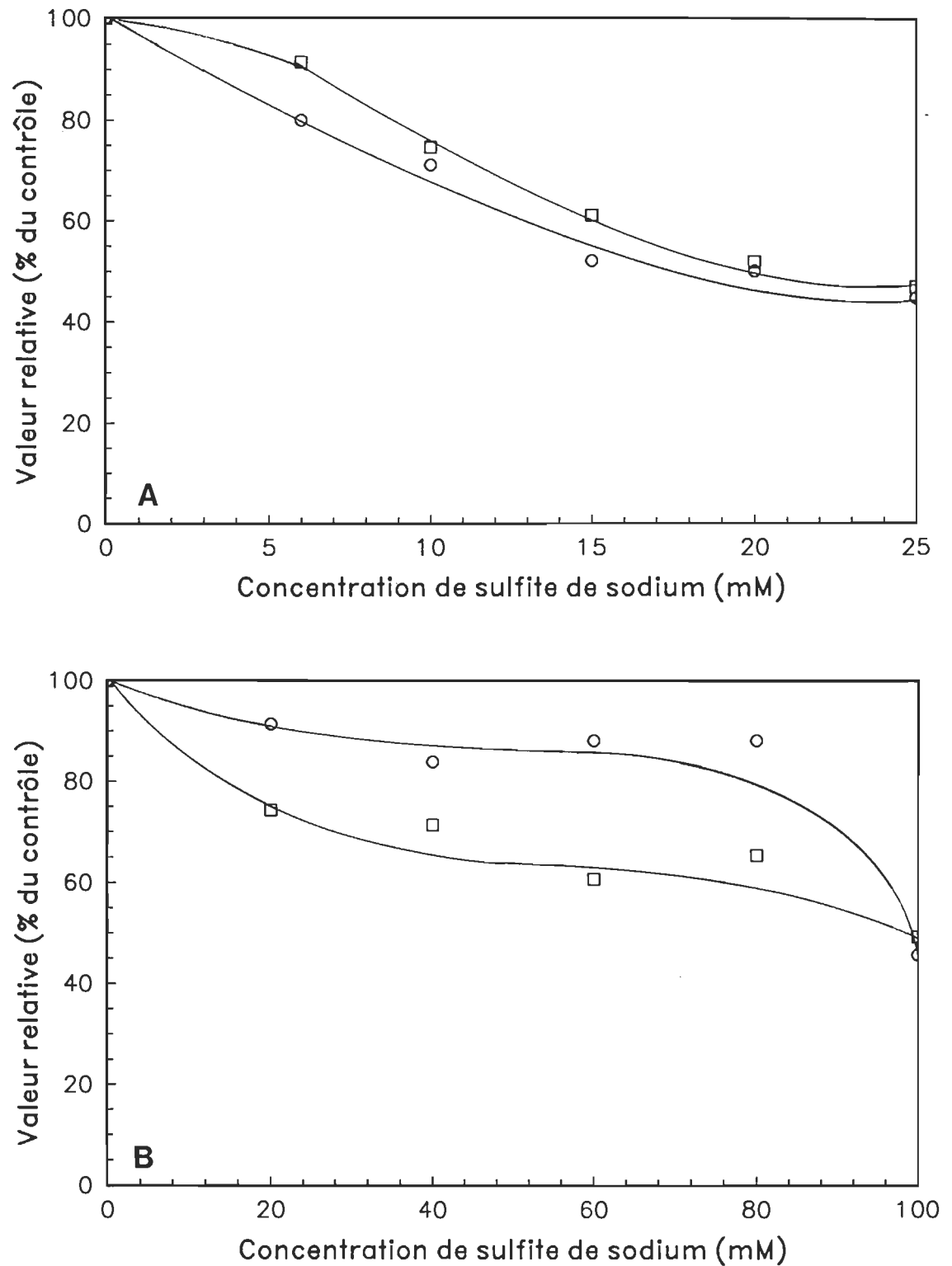


Figure 23. Effet de la concentration en sulfite de sodium (Na_2SO_3) sur l'EEP et l' A_{O_2} normalisée des disques de feuilles de pois

A) en présence de lumière ($80 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$); B) à l'obscurité
 ○ composante d'oxygène normalisée; □ emmagasinage d'énergie photosynthétique.
 Les valeurs sont exprimées en pourcentage des contrôles. $I_{\text{mod}} = 10 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$.

contrôles ou suite à un traitement en présence de 20 mM de sulfite de sodium (figure 24A et B). Ces courbes ont été utilisées pour calculer les R_{fd} (réduction du niveau de fluorescence/ niveau stationnaire de fluorescence; voir discussion). La valeur des R_{fd} ne varie pas de façon significative suite au traitement à l'obscurité (figure 24B, encart). Cependant, elle diminue de façon significative ($\approx 32\%$) suite au traitement en présence de lumière (figure 24A, encart).

Nous avons également calculé les rapports de la fluorescence variable (F_v) sur la fluorescence maximale (F_m) afin d'obtenir des informations supplémentaires sur le fonctionnement du PS II (tableau 16). Un traitement en présence de 20 ou 100 mM de sulfite de sodium n'affecte pas de façon significative ce rapport lorsque le traitement est effectué à l'obscurité. Par contre, 20 mM de sulfite de sodium, en présence de lumière, suffisent pour réduire de 12% de F_v/F_m indiquant un dommage possible au niveau du PS II.

Devant les différences observées, selon que le traitement a lieu en présence ou en absence de lumière, nous avons repris le traitement avec 20 mM de sulfite de sodium en présence de diverses intensités lumineuses. Les résultats sont résumés au tableau 17. Une inhibition comparable, d'environ 35%, d'EEP et d' Ao_2 normalisée s'observe à faible intensité lumineuse ($1 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$). Sous une intensité de $80 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$, l'EEP présente une inhibition de 50% alors que la composante d'oxygène normalisée est réduite de 65%.

E) Détermination de l'ouverture des stomates

Malheureusement, ni l'acétate de cellulose, ni le silicone nous ont permis de déterminer l'ouverture des stomates des feuilles d'érable à sucre. Ces deux substances donnent d'excellentes empreintes de la surface foliaire. L'absence de solvant pouvant affecter la

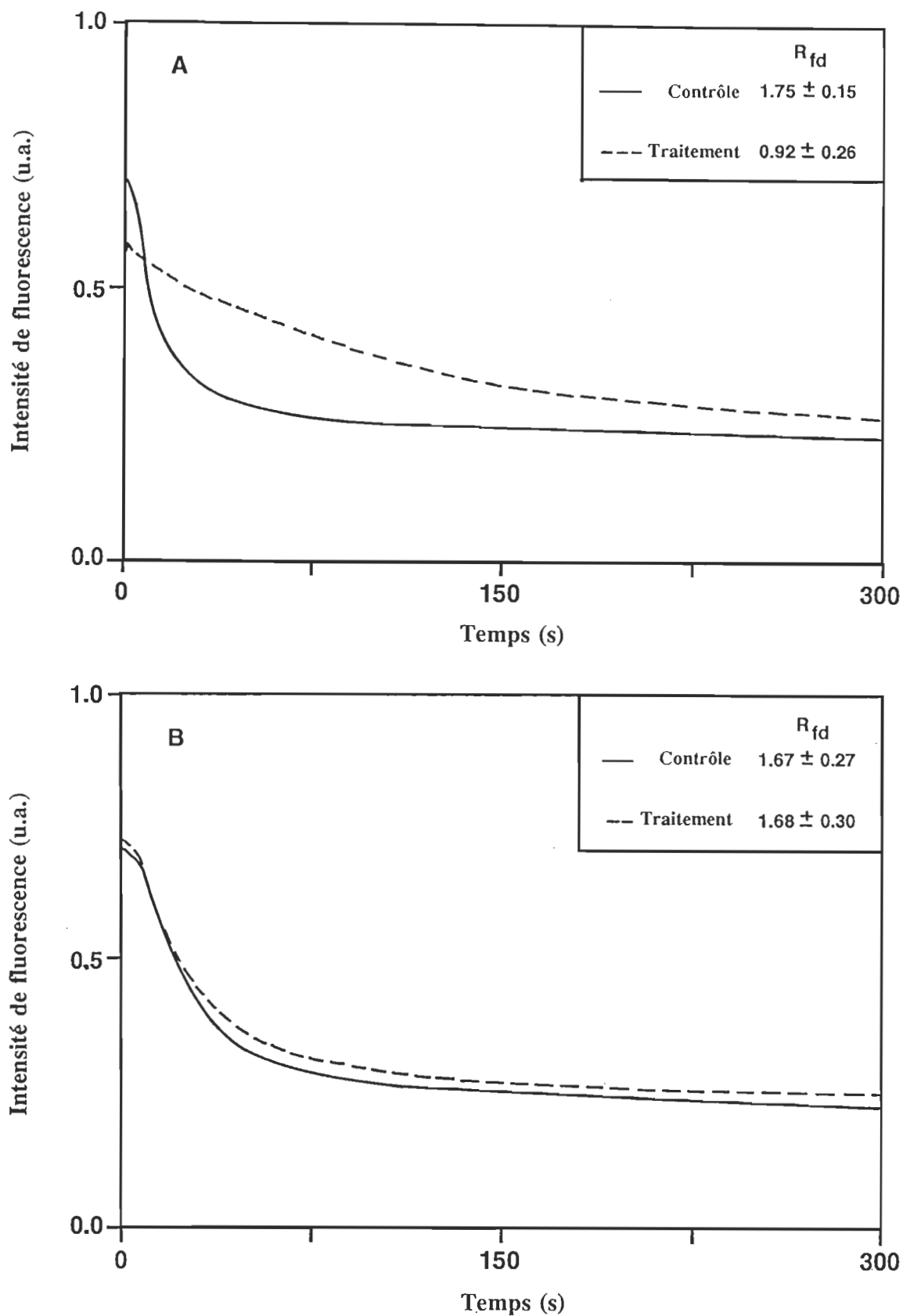


Figure 24. Courbes d'induction de fluorescence des disques de feuilles de pois: effet d'un traitement avec 20 mM de sulfite de sodium (Na_2SO_3)

A) en présence de lumière ($80 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$); B) à l'obscurité
 Traitement: incubation en présence de 20 mM de Na_2SO_3 . $\lambda_{\text{excitation}}$: 440 nm;
 $\lambda_{\text{émission}}$: 680 nm. R_{fd} : moyenne de 5 mesures \pm écart-type.

Tableau 16

Effet du sulfite de sodium (Na_2SO_3) sur le ratio de la fluorescence variable sur la fluorescence maximale (F_v/F_m) des disques de feuilles de pois

Traitement	F_v/F_m
Contrôle	0.75 ± 0.02
20 mM Na_2SO_3 en présence de lumière	0.63 ± 0.04
20 mM Na_2SO_3 à l'obscurité	0.73 ± 0.01
100 mM Na_2SO_3 à l'obscurité	0.76 ± 0.02

Moyenne de 4 mesures \pm écart-type.

physiologie des stomates fait du silicone un matériau de choix. Cependant, son opacité en rend l'observation au microscope impossible. Dans le cas de l'érable à sucre, la petitesse des stomates rend nécessaire l'examen des empreintes au microscope de sorte qu'il faut produire une image positive translucide (en nitrate de cellulose) des moulages en silicone. La morphologie des cellules de garde des feuilles chez cette espèce ne permet pas d'obtenir des moulages permettant d'évaluer les dimensions de l'ostiole. L'effet dans conditions environnementales prévalant dans la chambre de fumigation sur l'ouverture des stomates des feuilles d'érable à sucre demeure donc indéterminé.

Tableau 17

Effet du sulfite de sodium (Na_2SO_3) sur l'EEP et sur l' A_{O_2} normalisée des disques de feuilles de pois: influence de l'intensité lumineuse

Traitement	EEP	$A_{\text{O}_2}/A_{\text{Tm}}$
50 mM Na_2SO_3 à l'obscurité	68 ± 16	75 ± 16
20 mM Na_2SO_3 en présence de lumière ($1 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$)	64 ± 22	65 ± 10
20 mM Na_2SO_3 en présence de lumière ($80 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$)	50 ± 12	35 ± 16

Moyenne de 5 mesures \pm écart-type. Valeurs exprimées en pourcentage des contrôles.

CHAPITRE VII

DISCUSSION

A) Effets de l'ozone

1) À court terme

Lors des fumigations à court terme, les semis et les sauvageons ont manifesté une grande résistance à l'ozone. En effet, nous avons mesuré une inhibition significative de l'EEP (tableaux 8 et 9) qu'à des concentrations (1000, 2000 et 3000 ppb pour les semis et 3000 ppb pour les sauvageons) nettement supérieures à celles qui s'observent dans la nature. Nos résultats laissent croire en un effet marqué au niveau du complexe de dégagement d'oxygène, qui impliquerait une réduction de la composante d'O₂ avec, comme effet secondaire, une réduction du transport linéaire d'électron, expliquant la baisse d'EEP. L'amplitude de la composante thermique maximale est en général de 5 à 10 fois plus grande que celle de la composante d'oxygène. L'importance de l'amplitude du signal sur le rapport S/B pourrait expliquer l'existence d'une réduction significative de l'EEP et l'absence d'effet significatif pour la composante d'oxygène chez les semis exposés à 1000, 2000 ou 3000 ppb d'ozone (tableau 8). La variabilité de nos mesures ne nous permet pas d'élaborer sur ce point.

Il est reconnu que les phases de reproduction et les stades juvéniles sont potentiellement plus sensibles à l'ozone que d'autres phases de développement ou de croissance (Likens, 1976; Cowling, 1978; Blum & Heck, 1980; Lee & Weber, 1980; Cowling & Linthurst, 1981;

Tenga *et al.*, 1990). Il importe de faire la distinction entre stade juvénile (semis) et feuilles immatures. Les semis de moins d'un an que nous avons utilisés constituent un bon exemple de stade juvénile. Néanmoins, les feuilles sélectionnées pour nos mesures avaient toujours atteint leur plein développement, et de ce fait, ne pouvaient être considérées immatures.

Lors d'une étude, sur la résistance à l'ozone des sauvageons (2-5 ans) de plusieurs espèces ligneuses, Wood (1970) n'a pas observé de nécrose foliaire chez l'érable à sucre. Les durées ainsi que les concentrations utilisées par cet auteur se comparent aux nôtres, cependant l'exposition à l'ozone avait lieu alors que les feuilles étaient encore immatures. Nos résultats et ceux de Wood (1970) démontrent la résistance des sauvageons d'érable à sucre suite à une fumigation aiguë.

Les valeurs absolues des paramètres mesurés présentaient une grande variabilité (coefficient de variation atteignant 58% pour la composante d'oxygène d'un groupe contrôle de semis, et 80% pour celle d'un groupe soumis à 50 ppb d'ozone) capable de masquer un effet significatif de l'ozone. Notre situation ne semble pas unique puisque Barnes (1972) a observé une variabilité avant traitement, au niveau de l'activité photosynthétique et de la respiration pour des greffons de pins blancs (*Pinus strobus* L.) résistants et sensibles à l'ozone.

L'effet du traitement présentait, lui aussi, une variabilité importante (jamais inférieure à 10% et pouvant atteindre 82%). À ce sujet, Hibben (1969) a rapporté une grande différence dans la réponse de l'érable à sucre à l'ozone. Les coefficients de variation des dommages foliaires ("injury index") qu'il a obtenu se situent entre 0 et 80% avec une valeur moyenne de 43%. Reich *et al.* (1986) ont également obtenu une grande variabilité au niveau de la fixation photosynthétique du CO₂ d'érables à sucre fumigés à l'ozone. Il semble donc y avoir une grande amplitude naturelle dans la réponse de cette espèce à l'ozone, ce qui

pourrait expliquer les différences que nous avons observées dans la réponse des semis au traitement. Il faudra néanmoins faire la distinction entre la résistance réelle de l'érable à sucre et les limitations de la technique à pouvoir déterminer celle-ci.

Nos résultats relatifs aux effets de l'ozone sur les sauvageons d'érable à sucre diffèrent de ceux obtenus par Hibben (1969) avec la même espèce (tableau 18). En se basant exclusivement sur des observations visuelles¹ pour déterminer la toxicité de l'ozone, il a établi le seuil de sensibilité des sauvageons d'érable à sucre entre 200 et 300 ppb pour une fumigation de 2 h. Les concentrations inférieures à 200 ppb n'auraient produit aucun dommage visible aux feuilles. Concernant les doses seuils obtenues par Hibben (1969), deux points importants doivent être soulevés. Premièrement, celles-ci concernent une quantification grossière des dommages foliaires évalués jusqu'à 2 semaines après le traitement. Cette attente de plusieurs jours, proscrite dans notre cas, ainsi que la variabilité des paramètres PA et de l'effet observé, expliquent probablement pourquoi cet auteur a obtenu un seuil de sensibilité à l'ozone plus bas que le nôtre. Deuxièmement, il faut être prudent en comparant les résultats d'observations visuelles et les valeurs des paramètres PA que nous avons obtenus. Les paramètres PA devraient, en théorie, permettre de détecter un effet du traitement avant l'apparition de modifications morphologiques visibles.

Même si le seuil que nous avons déterminé diffère considérablement de celui trouvé par Hibben (1969), la résistance de l'érable à sucre à l'ozone constitue un point sur lequel nous entendons. Cet auteur soulève à ce sujet que la valeur d'environ 200 ppb qu'il a obtenu se situe au-dessus du seuil de sensibilité aux polluants oxydants de plusieurs autres espèces

1 En plus des observations à la loupe stéréoscopique, l'auteur s'est basé sur les résultats de divers tests histologiques (détection des lipides au Soudan IV, des substances pectiques au rouge de ruthénium, au IKI-H₂SO₄ pour la cellulose, au phloroglucinol-HCl pour la lignine et au IKI pour l'amidon) effectués sur des coupes transversales prélevées sur du matériel frais afin d'évaluer les effets du traitement.

Tableau 18

Effet de l'ozone sur l'érable à sucre: induction de dommages foliaires

TRAITEMENT	MATÉRIEL UTILISÉ ET CONDITIONS EXPÉRIMENTALES	OBSERVATIONS ¹
durée: 1, 2 ou 3 h concentrations: 50 - 100 - 150 - 200 - 300 - 400 - 500 - 600 - 700 - 800 ou 900 ppb	5 à 7 sauvageons par expérience âge non spécifié fumigation au laboratoire T = 27 - 32°C, HR = 70 - 80% 30 min d'acclimatation mélange de lampes fluorescentes et incan- descentes (entre 50 et 90 W·m ⁻²) ≈ 1 renouvellement d'air·min ⁻¹	seuil de sensibilité établi entre 200 et 300 ppb pour une fumigation de 2 h
durée: 2 h·j ⁻¹ pendant 14 j [28 h total] concentrations: 100 - 200 - 500 ou 900 ppb		1.2 - 1.2 - 2.1 et 2.0 respectivement
durée: 12 h·j ⁻¹ pendant 5 j [60 h total] concentration: 200 ppb		1.6
durée: 4 h·j ⁻¹ pendant 40 j [160 h total] concentration: 50 ppb		1.0
durée: 6 h concentration: 600 ppb	15 sauvageons d'ombre de 4 à 6 ans fumigation au champ	1.0
durée: 3 h concentration: 300 ou 600 ppb	12 arbres (3 à 23 cm dhp) 36 branches pour 0.30 ppm 18 branches pour 0.60 ppm T = 15 - 40°C, HR = 45 - 98%	1.3 (entre 1.1 et 2.2) 1.9 (entre 1.0 et 3.3) respectivement

(D'après Hibben, 1969)

1 Échelle de 1 à 6 assignée aux feuilles, où 1 indique l'absence de symptôme et 6 représente 80 à 100% du limbe foliaire nécrosé.

(Hibben, 1969). La résistance à l'ozone de l'érable à sucre que nous avons observée semble donc réelle. D'ailleurs, la sensibilité des arbres à ce polluant serait inférieure à celles des plantes herbacées (Darrall, 1989).

Il convient de discuter des effets possibles de l'intensité lumineuse utilisée lors de la fumigation des plantes au laboratoire. Une variation de l'intensité lumineuse (d'environ 100 à 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$) lors d'une exposition des semis à 1 ppm d'ozone a permis de déceler une différence significative dans la réponse de ces plantes. Ainsi, l'inhibition de l'EEP, observée suite à la fumigation sous une intensité lumineuse de 85 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, diminue au point de ne plus être significative lorsque la fumigation a lieu à une intensité lumineuse de 215 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ (tableau 12). Dans ce cas, l'augmentation de l'intensité lumineuse aurait un effet protecteur. Nos résultats ne nous permettent pas de déterminer si cet effet de la lumière est le résultat de la fermeture des stomates, d'une plus grande efficacité des mécanismes de réparation ou d'une combinaison des deux.

Carlson (1979) a observé une différence au niveau de l'effet du SO_2 en fonction de l'intensité lumineuse chez l'érable à sucre. Il a obtenu une inhibition de l'activité photosynthétique plus grande aux "faibles" intensités lumineuses (entre ≈ 660 et $1340 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) qu'aux intensités "moyennes" (entre ≈ 1670 et $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$). L'effet inhibiteur augmentait à nouveau aux "fortes" intensités lumineuses (entre ≈ 4350 et $5020 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$). Il faut cependant souligner que, pour des raisons techniques, les intensités lumineuses que nous avons utilisées étaient nettement inférieures à celles rapportées par Carlson (1979).

Un phénomène qu'il ne faut pas oublier de mentionner est la réversibilité possible de l'inhibition de la photosynthèse induite par le polluant. Une telle réversibilité a été rapportée par différents auteurs (Bennett & Hill, 1973; Hällgren & Gezelius, 1982; Darrall,

1986) lorsque l'inhibition causée par la fumigation n'excédait pas un certain seuil (environ 20%) et qu'il n'y avait pas de dommage visible. Ces auteurs ont observé une récupération de l'activité photosynthétique à son niveau initial environ 2 h après une fumigation au bioxyde de soufre. Dans certains cas, une augmentation de la photosynthèse a même été observée (Muller *et al.*, 1979).

Puisque les mesures que nous avons effectuées sur les semis débutaient moins de 15 min après la fin de la fumigation (ozone ou bioxyde de soufre), il nous apparaît peu probable que le phénomène de récupération dont nous venons de discuter ait pu intervenir sur nos résultats. De plus, si l'on supposait l'intervention de mécanismes de réparation à l'échelle de temps correspondant à la durée de nos mesures (8 h au maximum), nous aurions observé une réduction de l'effet inhibiteur au cours de cette période de temps. Une analyse attentive de nos données ne nous permet pas de dégager une telle tendance. Les inhibitions mesurées varient de façon aléatoire et ne nous permettent pas de croire dans la manifestation d'une récupération.

Les mesures que nous avons effectuées de 0 à 96 h après une exposition à 1000 ppb d'ozone semblent indiquer la récupération de l'EEP et de la composante d'oxygène (tableau 10). Cependant, les différences, parfois importantes, observées ne sont jamais significatives (sauf pour la composante d'oxygène normalisée). Une réduction du contenu en eau de la feuille, suite au traitement, pourrait expliquer l'augmentation de la composante d'oxygène observée lors de cette expérience. En effet, Malkin *et al.* (1992) ont démontré la sensibilité de la composante d'oxygène, par rapport au contenu en eau des espaces intercellulaires des disques de feuille d'érable à sucre. La composante thermique y serait nettement moins sensible. Cependant, nous verrons à l'annexe III qu'il n'existe pas de relation entre les paramètres PA et le contenu en eau des disques de feuille. Nous n'avons pas vérifié l'effet du traitement sur le contenu en eau des feuilles.

2) À long terme

a) Chambres d'exclusion

En ce qui concerne les sauvageons conservés dans les chambres d'exclusion, la variation des résultats obtenus au cours de la saison de mesure ne nous permet pas de conclure en une réduction significative pour l'ensemble des paramètres PA mesurés en dépit de la période prolongée d'exposition (tableau 13). Cette affirmation tient à la fois pour les plantes exposées à la concentration ambiante d'ozone ou trois fois celle-ci et cela pour la durée entière du traitement.

Jensen (1973) a rapporté une réduction significative de la croissance de semis d'érable à sucre d'un an exposés à 300 ppb d'ozone pendant 5 mois ($8\text{h}\cdot\text{j}^{-1}$, $5\text{j}\cdot\text{sem}^{-1}$). Selon cet auteur, si la croissance était utilisée pour déterminer la sensibilité à l'ozone, l'érable à sucre serait classé parmi les espèces sensibles. Ceci diffère de nos résultats et de ceux de Wood & Davis (1969) qui nous permettent de classer cette espèce comme tolérante. De plus, Noble *et al.* (1992) n'ont obtenu aucune réduction significative de la croissance et de la fixation photosynthétique du CO_2 chez des semis d'érable à sucre soumis pendant 85 jours à 150 ppb d'ozone.

Reich & Amundson (1985) ont rapporté qu'une exposition intermittente à l'ozone pendant 7 semaines ($7\text{h}\cdot\text{j}^{-1}$, $5\text{j}\cdot\text{sem}^{-1}$; 30, 60, 90 ou 120 ppb) combinée à un arrosage aux pluies acides artificielles (pH 5.6, 4.0 ou 3.0) n'a eu aucun effet significatif sur la conductance stomatique de l'érable à sucre. Cependant, ils ont observé une réduction de 25% de l'assimilation photosynthétique du CO_2 , ce qui diffère, encore une fois, de nos résultats.

De plus, Reich *et al.* (1986) ont rapporté une réduction de 30% dans la fixation photosynthétique du CO₂ d'érables à sucre exposés à 120 ppb d'ozone (7 h·j⁻¹, 5 j·sem⁻¹ pour 10 sem), concentration pour laquelle nous n'avons observé aucune réduction significative des paramètres PA. Nous devons souligner que la durée de leurs fumigations diffère de la nôtre et que leurs plantules étaient d'âge intermédiaire (2 ans).

b) Arbres matures

Les faibles variations de l'EEP des feuilles d'arbres présentant un niveau nul (0%), intermédiaire (40%) ou avancé (70%) de dépérissement que nous avons mesurées indiquent que ni ce paramètre ni la spectroscopie photoacoustique n'est adapté pour discriminer entre des arbres présentant des niveaux différents de dépérissement.

L'interprétation du comportement de la composante d'oxygène varie selon que l'on examine ce paramètre seul ou normalisé. Ainsi, la composante d'oxygène des feuilles de l'arbre classé intermédiaire est supérieure à celle des feuilles de l'arbre sain. Cette différence disparaît lorsque l'on compare la composante d'oxygène normalisée. Dans le cas des feuilles provenant de l'arbre dépéri à 70%, la composante d'oxygène ne diffère pas de celle des feuilles saines alors que la composante d'oxygène normalisée présente une réduction mesurable.

Puisque le dépérissement s'accompagne d'un éclaircissement de la couronne de l'arbre, il serait intéressant de faire intervenir l'effet de la lumière sur l'activité photosynthétique mesurée en SPA (EEP et Ao₂). Dans ce cas, l'augmentation de l'intensité lumineuse devrait se manifester sur les feuilles provenant de l'arbre à dépérissement "intermédiaire" et de l'arbre "avancé".

Nos résultats ne nous permettent pas de conclure que tel est le cas. Il demeure difficile d'expliquer pourquoi l'EEP n'est pas affecté alors que le dégagement d'oxygène augmente chez l'arbre dépéri à 40%. Nous sommes également incapables d'expliquer pourquoi l'arbre dépéri à 70% ne se comporte pas d'une façon comparable à l'arbre dépéri à 40%. Cette ambiguïté tient possiblement du fait que, dans le cas d'arbres en milieu naturel, certaines manifestations du dépérissement sont plus complexes qu'on le suppose *a priori*. Le nombre de mesures que nous avons effectuées sur des arbres matures en milieu naturel est limité. De plus, le protocole d'échantillonnage confond la contribution du génotype avec celle du dépérissement. Ceci limite donc notre discussion sur l'influence du dépérissement, tel qu'évalué par l'observation visuelle, sur l'activité photosynthétique des feuilles.

B) Effets du bioxyde de soufre et de l'ion sulfite

Nous venons de voir que l'érable à sucre démontre une grande résistance photosynthétique vis-à-vis de l'ozone. Il s'avère que cette résistance tient également pour le bioxyde de soufre.

1) Le bioxyde de soufre

Les résultats que nous avons obtenus indiquent un effet différentiel du bioxyde de soufre, en fonction de la concentration, sur l'activité photosynthétique (EEP et A_{O_2} normalisée) des feuilles d'érable à sucre. La dépendance de l'effet observé vis-à-vis de la concentration s'est avérée plus stable que dans le cas de l'ozone. Ce qui distingue particulièrement le SO_2 de l' O_3 est l'effet stimulateur, significatif dans le cas des sauvageons, observé à faible

concentration (50 ppb pour les sauvageons). Signalons que le dégagement d'oxygène normalisé présente une variation (stimulation ou inhibition) supérieure à l'EEP (tableau 15).

L'ion sulfite, un produit de réaction du SO_2 et de l'eau, stimulerait le transport photosynthétique d'électrons de même que le taux de fixation du CO_2 de chloroplastes isolés, lorsque présent en faible concentration (Libera *et al.*, 1973; Ziegler & Libera, 1975). Ghisi *et al.* (1990) ont démontré la dépendance du dégagement d'oxygène, chez les chloroplastes isolés d'épinard, en fonction de la concentration en sulfite, lors de la réduction de cet ion. Il semble donc probable qu'un tel mécanisme, impliquant la transformation des ions sulfite, soit responsable de l'augmentation du dégagement d'oxygène que nous rapportons.

Plus près des expériences que nous avons effectuées, divers auteurs ont observé une stimulation du taux de fixation de CO_2 , mesuré chez des feuilles entières, suite à une fumigation avec de faibles concentrations de SO_2 (Takemoto & Noble, 1982; Katainen *et al.*, 1987). Cet effet serait attribuable à une augmentation de la conductance stomatique (Takemoto & Noble, 1982) et à une stimulation de l'activité des enzymes chloroplastiques activés par la lumière (Katainen *et al.*, 1987).

L'accroissement du dégagement d'oxygène et de l'EEP que nous avons observé indiquerait une augmentation du transport d'électrons vers le NADP. En retour, cette hausse de la concentration de NADPH serait en mesure de permettre une fixation plus importante du CO_2 , telle qu'observée chez certaines plantes exposées à de faibles concentrations de SO_2 (Sekija *et al.*, 1982; Rennenberg *et al.*, 1990).

Mentionnons également que l'augmentation du transport d'électrons, observée chez les sauvageons fumigés avec 50 ppb de SO_2 , est en mesure d'accroître le taux de réduction des

ions sulfite en H_2S dans les chloroplastes, gaz qui sera par la suite émis dans l'atmosphère par la feuille (Wilson *et al.*, 1978; Sekija *et al.*, 1982; Rennenberg *et al.*, 1990). Cette réaction est d'ailleurs considérée comme un mécanisme de détoxification qui pourrait expliquer la différence de phytotoxicité du SO_2 observée entre les espèces (Sekija *et al.*, 1982; Rennenberg *et al.*, 1990).

En ce qui concerne le dégagement d'oxygène, il demeure difficile de séparer la contribution des divers mécanismes consommateurs d' O_2 , rapportés par Charland *et al.* (1992) pour l'érable à sucre, des effets réels du SO_2 . Ainsi, une augmentation de la respiration ou de la photorespiration serait en mesure de réduire le dégagement d'oxygène mesuré en SPA au même titre qu'une réduction de l'activité de la chaîne de transport d'électrons et plus particulièrement du PS II.

La réduction de l'EEP ainsi que du dégagement d'oxygène, obtenue suite aux fumigations en présence de SO_2 en concentration élevée, traduit une inhibition au niveau de la chaîne de transport d'électron (Silvius *et al.*, 1975; Wellburn, 1985; Alscher *et al.*, 1987b). Plusieurs sites au niveau de cette chaîne, dont le système d'oxydation de l'eau (Shimazaki & Sugahara, 1979; Shimazaki *et al.*, 1984a), le PS II (Silvius *et al.*, 1975; Shimazaki & Sugahara, 1979; Cerović *et al.*, 1982; Shimazaki *et al.*, 1984a, b; Wellburn, 1985; Alscher *et al.*, 1987b; Schmidt *et al.*, 1988) ou un site au-delà du PS II (Adams *et al.*, 1989), seraient sensibles à divers degrés à la présence du bioxyde de soufre. Cependant, dans une étude récente, Adams *et al.* (1989) ont éliminé le PS II comme site primaire d'attaque par le SO_2 .

En ce qui concerne l'absence de dommage visuel observable suite aux fumigations, signalons que Covello *et al.* (1989) ont démontré que l'inhibition de la chaîne de transport d'électron précédait la peroxydation, en présence de lumière, des lipides membranaires. Il

semble donc exister une séparation temporelle entre l'inhibition de l'activité photosynthétique et l'apparition de dommages visibles comme en témoignent nos résultats.

Suite à une fumigation, des anions et/ou des radicaux libres, produits lors de l'oxydation du SO_2 en sulfate, peuvent intervenir de façon prépondérante dans la manifestation de la phytotoxicité du bioxyde de soufre. De plus, il apparaît fort probable que l'acidification importante du stroma ainsi que l'accumulation d' H_2O_2 peuvent conduire à l'inactivation de plusieurs enzymes clés impliqués dans la fixation du CO_2 (Alscher *et al.*, 1987b; Pfanz *et al.*, 1987a). Il demeure concevable que cette inhibition puisse entraîner une réduction de l'emmagasinage d'énergie et du dégagement photosynthétique d'oxygène.

La résistance des semis et des sauvageons d'érable à sucre au SO_2 se compare à celle démontrée pour l'ozone. Seules des concentrations élevées, entre 1000 et 2000 ppb, ont causé une réduction significative de certains paramètres PA.

L' O_3 et le SO_2 impliquent des espèces réactives dont l'étude comporte un grand intérêt pour la compréhension des mécanismes d'action de ces polluants. Puisque l'action du SO_2 implique l'ion sulfite, nous avons étudié l'effet de ce dernier sur une plante sensible, le pois. Deux objectifs sous-tendaient cette étude: 1- élucider le mode d'action de l'ion sulfite; 2- vérifier le potentiel de la SPA dans l'étude des mécanismes d'action d'un polluant.

2) L'ion sulfite

Les résultats obtenus avec l'érable à sucre ne nous permettent pas d'étudier le ou les mécanismes d'action des ces deux polluants gazeux. Cette situation limitait notre

évaluation du potentiel de la spectroscopie photoacoustique appliquée à l'écophysiologie. Pour cette raison, mais également afin de mieux comprendre le mode d'action du SO_2 , nous discuterons de les effets du sulfite de sodium sur l'activité photosynthétique des feuilles de pois.

L'effet inhibiteur de l'ion sulfite se manifeste sur l'emmagasiner d'énergie photosynthétique et sur la composante d'oxygène normalisée (figure 23A) et l'importance de l'inhibition augmente en fonction de la concentration. De plus, nos résultats indiquent que l'effet est nettement plus important lorsque le traitement a lieu en présence de lumière (figure 23A) qu'à l'obscurité (figure 23B).

Il convient de rappeler que l'EEP nous informe sur le transport linéaire et cyclique d'électrons. Pour sa part, la composante normalisée d'oxygène ne tient compte que du transport linéaire d'électrons, en l'absence de donneurs et d'accepteurs exogènes d'électrons.

La figure 23B nous permet de constater, qu'à l'obscurité, la composante d'oxygène normalisée est moins affectée que l'EEP par le traitement au sulfite de sodium. En fait, la réduction marginale d' Ao_2 normalisée suggère que l'activité du PS II n'est pas affectée de façon appréciable par la présence d'ions sulfites en absence de lumière. Nos résultats confirment des observations rapportées antérieurement pour des protoplastes isolés à partir de disques de feuilles incubés à l'obscurité en présence d'ions sulfites (Shimazaki *et al.*, 1984a; Miszalski & Ziegler, 1989). Adams *et al.* (1989) ont d'ailleurs éliminé le PS II comme site premier d'inhibition pour les feuilles fumigées au SO_2 dans ces conditions.

Des mesures effectuées en spectroscopie par fluorescence (figure 24A et B) confirment la résistance du PS II à un traitement au sulfite de sodium à l'obscurité

(Veeranjaneyulu *et al.*, 1992). Le rapport de la réduction du niveau de fluorescence ("fluorescence decrease" ou f_d) sur le niveau stationnaire de fluorescence ("steady state fluorescence" ou f_s), $R_{fd} = f_d/f_s$, également appelé indice de vitalité, serait un indicateur de l'activité photosynthétique de la feuille (Lichtenthaler *et al.*, 1986). Comme indiqué dans l'encart de la figure 24A et B, les valeurs du R_{fd} diminuent chez les feuilles traitées au Na_2SO_3 en présence de lumière. Cet indice demeure cependant constant pour les feuilles traitées à l'obscurité.

La composante lente de la fluorescence émise par le PS II est influencée par le flot d'électrons du côté réducteur de ce dernier. Ainsi, l'émission de fluorescence décroît lorsque l'activité photosynthétique augmente (voir figure 11). Afin de mieux comprendre le fonctionnement du PS II en présence d'ions sulfites, nous avons présenté, au tableau 16, les valeurs du rapport de la fluorescence variable (F_v) sur la fluorescence maximale (F_m) pour les spécimens contrôles ou ayant subis divers traitements en présence de lumière ou à l'obscurité.

Ce tableau démontre que les valeurs de F_v/F_m , un indicateur de l'efficacité du PS II, ne sont pas affectées par le traitement au sulfite de sodium à l'obscurité pour une concentration de 20 ou 100 mM. Ainsi, un traitement d'une heure à l'obscurité en présence de 100 mM de Na_2SO_3 , n'a pas d'effet sur l'activité du PS II (tableau 16) alors que l'EEP et la composante d'oxygène normalisée présentent une réduction d'environ 50% (figure 23). De plus, les valeurs du R_{fd} , obtenues suite au même traitement, ne représentent plus que 70% de celles des contrôles, en accord avec les mesures PA. Ces résultats suggèrent que le traitement au sulfite de sodium à l'obscurité inhiberait la photosynthèse à un site au delà du PS II. Cependant, la diminution des valeurs de F_v/F_s , observée suite au traitement en présence de lumière, indique des dommages possibles au PS II lui-même dans ce cas.

La réduction importante de l'EEP suggère que soit la photophosphorylation, soit le transport cyclique d'électron autour du PS I ou les deux mécanismes sont affectés par le traitement au sulfite à l'obscurité. Divers anions contenant du soufre découpleraient la photophosphorylation (Hall & Telfer, 1969; Alscher *et al.*, 1987b). Un tel découplage affecte la synthèse d'ATP (Silvius *et al.*, 1975)(voir figure 5) et, de ce fait, est susceptible de réduire l'EEP. Indirectement, cette baisse de la production d'ATP peut se refléter sur la composante d'oxygène normalisée via une inhibition de la fixation photosynthétique du CO₂. L'effet inhibiteur de l'ion sulfite sur le cycle de Calvin a d'ailleurs été rapporté par Ziegler *et al.* (1976) et par Marques & Anderson (1986). L'interdépendance du transport d'électron et de la fixation du CO₂ peut entraîner une réduction de l'EEP dans un tel cas.

Dans de telles conditions, nous pouvons également nous attendre à une réduction d'Ao₂ normalisée. Cependant, nos résultats n'indiquent qu'une baisse marginale de ce paramètre chez les feuilles traitées au sulfite à l'obscurité. Ghisi *et al.* (1990) ont démontré que le dégagement d'oxygène des chloroplastes intacts de feuilles d'épinard dépend de la concentration en sulfite. Une dépendance similaire pourrait expliquer notre réduction marginale de la composante d'oxygène normalisée. Il ressort de nos observations que l'inhibition importante de l'EEP des feuilles traitées au Na₂SO₃ à l'obscurité résulte de l'action des ions sulfites sur la photophosphorylation et sur le transport cyclique d'électron autour du PS I.

Les résultats dont nous venons de discuter nous ont conduit à vérifier l'effet de l'intensité lumineuse sur le pouvoir inhibiteur de l'ion sulfite. Sous une intensité de 1 W·m⁻² (environ 5 µmol·s⁻¹·m⁻² RAP), l'EEP et la composante d'oxygène normalisée présentent une réduction comparables (environ 35%). Cette inhibition est moindre que celle observée sous une intensité lumineuse de 80 W·m⁻² (environ 400 µmol·s⁻¹·m⁻² RAP)(tableau 17).

Bien que non significative, la différence d'inhibition entre l'EEP et Ao_2 normalisée pour les disques traités en présence de lumière ($80 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$), conditions similaires à celles prévalant lors des expériences antérieures, démontre bien le problème que pose les variations dans la réponse des diverses plantes (variation intra-spécifique). La réduction marquée d' Ao_2 normalisée suite au traitement en présence de lumière, suggère que l'inhibition de l'activité du PS II implique certains processus dépendant de la lumière. En présence de lumière, les ions sulfites sont oxydés en ions sulfates, réaction médiée par le transport photosynthétique d'électrons. Durant ce processus, de l'oxygène est consommé et diverses espèces réactives dérivées de l'oxygène sont produites (Asada, 1980).

Ces espèces réactives peuvent inhiber l'activité du PS II et réduire la valeur d' Ao_2 normalisée. La réduction importante de ce paramètre peut s'expliquer, en partie, par la consommation d'oxygène consécutive à l'oxydation des sulfites en sulfates dans les chloroplastes. D'ailleurs, la dépendance de la composante d'oxygène normalisée vis-à-vis des divers processus consommateurs d' O_2 a déjà été démontré (Beauregard & Popovic, 1987; Havaux *et al.*, 1987b; Charland *et al.*, 1992).

Nos résultats indiquent que l'ion sulfite serait moins toxique à l'obscurité qu'en présence de lumière. Ceci contraste avec les observations d'une plus grande toxicité et inhibition du dégagement photosynthétique d'oxygène chez les plantes fumigées au SO_2 à l'obscurité, comparativement à celles fumigées en présence de lumière (Olszyk & Tingey, 1984; Adams *et al.*, 1989). Dans ce cas, l'accumulation d'ions sulfites et H^+ dans le stroma a été retenue comme cause responsable des effets observés. Selon nos observations, il apparaît plus probable que l'inhibition supérieure rapportée chez les plantes fumigées au SO_2 à l'obscurité, résulte d'une accumulation d'ions H^+ et de l'acidification consécutive du stroma (Pfanz *et al.*, 1987b), plutôt que d'une accumulation d'ions sulfites.

À l'obscurité, l'ion sulfite inhiberait la photophosphorylation et le transport cyclique d'électron telle qu'indiqué par l'inhibition plus grande de l'EEP comparativement à celle d' Ao_2 normalisée. En présence de lumière, en plus des ions sulfites, les espèces réactives dérivées de l'oxygène produites lors de l'oxydation du sulfite en sulfate seraient responsables de l'inhibition de la photosynthèse.

C) Détermination de l'ouverture de stomates

Nous avons mentionné l'inaptitude de la dose à exprimer la quantité réelle de polluant perçue par la plante. L'évaluation de la concentration interne de la feuille en polluant s'avère techniquement hors de notre portée. Notre seul recours consistait à vérifier si les conditions expérimentales, incluant la présence du polluant, induisaient la fermeture des stomates. En dépit de la variété des techniques qui existent pour déterminer l'ouverture des stomates, son évaluation quantitative demeure plutôt difficile (Gloser, 1967). Il nous a été impossible d'établir si les stomates étaient ouverts ou fermés avant ou pendant les fumigations.

Nous pouvons envisager que la morphologie particulière des cellules de garde de l'érable à sucre constitue le paramètre responsable de notre échec. Nous présentons à la figure 25 une photographie, prise au microscope électronique à balayage, de la surface inférieure d'une feuille d'érable noir (*Acer nigrum* L.)(figure 25A), dont la morphologie foliaire se rapproche considérablement de celle de l'érable à sucre (figure 25B). Des projections cireuses dirigées vers l'ostiole sont évidentes sur les cellules de gardes. Elles s'observent également chez l'érable à sucre (Krause, 1982), mais la structure de la cuticule en rend l'observation difficile (figure 25B). Ces projections peuvent faire obstacle à la pénétration du silicone et de l'acétate de cellulose et rendre inutilisable l'empreinte obtenue. Ce problème, engendré par la présence

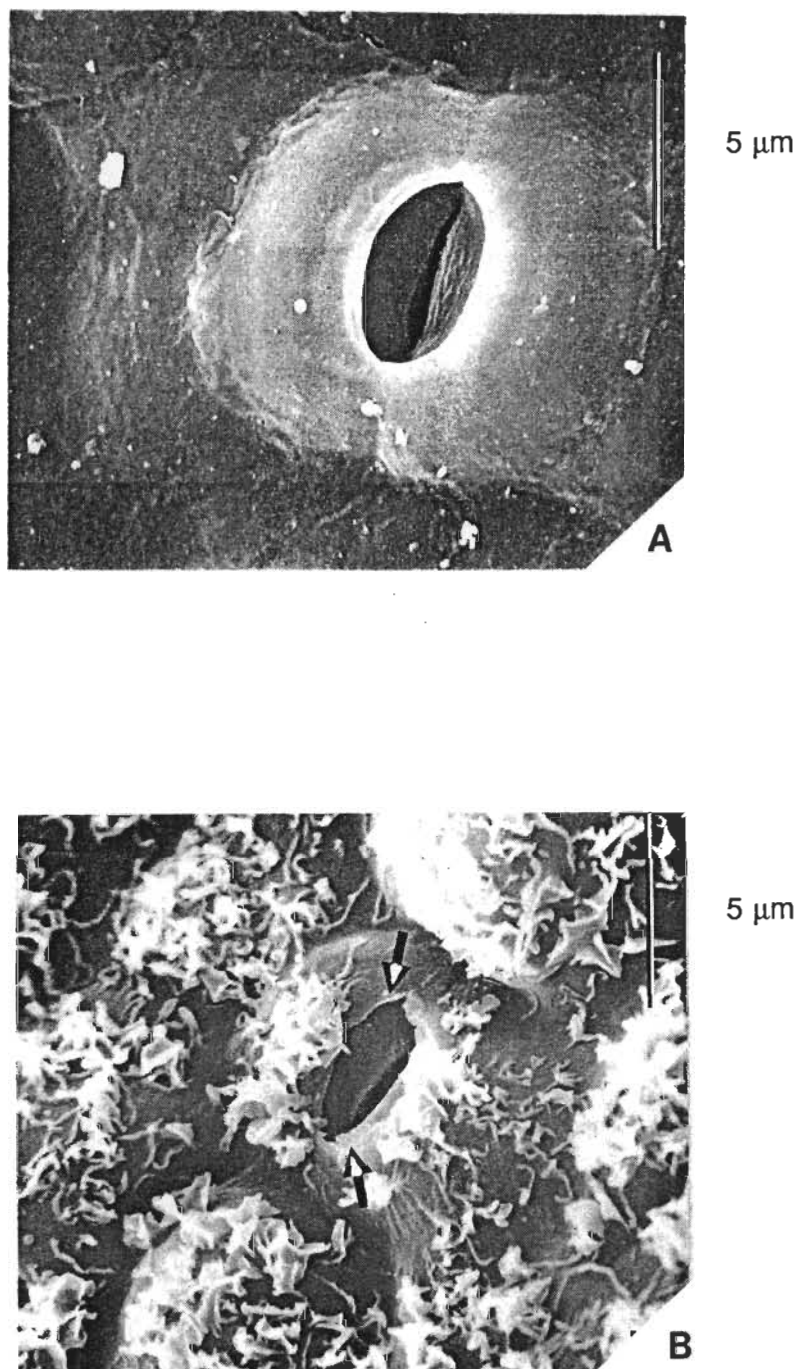


Figure 25. Morphologie des cellules de garde chez deux espèces d'érable

A) Érable noir; B) Érable à sucre
(D'après Krause, 1982)

de projections, a d'ailleurs été soulevé par Gloser (1967) pour les feuilles de betterave.

Même en utilisant la technique d'empreinte sur matrice d'acétate de cellulose, la détermination de l'état de fermeture des stomates serait moins facile pour l'érable à sucre que pour d'autres espèces (Hibben, 1969). Cette situation tient probablement du fait que les stomates y sont petits et présentent des occlusions cireuses (Davies & Kozlowski, 1974, 1975). À ce sujet, Krause (1982) rapporte que la longueur de l'axe longitudinale des stomates d'érable à sucre serait de 7 μm alors que Lei & Lechowicz (1990) ont obtenu $8.9 \pm 0.3 \mu\text{m}$, ce qui témoigne de leur petitesse. Chez l'érable à sucre, l'épiderme supérieure ne possède pas de stomate alors qu'on peut en dénombrer plus de 25 000 sur la face inférieure (Krause, 1982). Lei & Lechowicz (1990) ont rapporté une densité de 329 ± 57 stomates par mm^2 .

À notre incapacité à déterminer l'ouverture des stomates, s'ajoute la confusion existant dans littérature. Ainsi, pour l' O_3 et le SO_2 , l'absence d'effets, l'augmentation et la réduction de la conductivité stomatique ont été rapporté (tableaux 11 à 17 dans Darrall, 1989).

D) Importance des stomates

Le système de ventilation utilisé dans nos chambres d'exclusion est nettement plus puissant que celui de notre chambre de fumigation. Weinstock *et al.* (1982) n'ont rapporté aucune différence dans la résistance stomatique entre les plantes maintenues à l'intérieur d'une chambre d'exclusion et celles maintenues à l'extérieur. Nous pouvons donc prétendre que l'ouverture des stomates, ou du moins la résistance stomatique, des plantes dans la chambre de fumigation et les chambres d'exclusion, n'était pas affectée par le courant d'air créé par les ventilateurs. Cependant, il a été démontré que les stomates de l'érable à sucre se ferment plus

vite sous un stress (faible intensité lumineuse, vent, humidité relative basse) que chez d'autres ligneux comme le frêne d'Amérique (Davies & Kozlowsky, 1974; Davies *et al.*, 1974).

Les turbulences de l'air ne constituent pas le seul facteur responsable de la fermeture de stomates. Il semble donc justifié de s'interroger sur l'importance d'autres facteurs tels que le niveau hydrique du sol, l'humidité relative de l'air (Lange *et al.*, 1971; Aphalo & Jarvis, 1991), l'intensité et la qualité de la lumière (Davies & Kozlowski, 1975; Raschke, 1975; Hall *et al.*, 1976; Pereira & Kozlowski, 1977). Puisque nous avons vérifié le niveau d'humidité du sol avant chaque fumigation, nous croyons peu probable que nos plantes aient subi un stress hydrique important attribuable à un manque d'eau. Même en supposant qu'elles aient subi un stress hydrique modéré, Davies et Kozlowski (1975) ont rapporté que les stomates des feuilles d'érable à sucre demeuraient ouverts dans de telles conditions.

En ce qui concerne l'environnement lumineux, nous avons utilisé dans la chambre de fumigation une intensité comparable et une qualité similaire à celles prévalant dans la chambre de croissance réduisant au minimum les risques de stress lumineux et de fermeture des stomates dans le cas des semis. Pour ce qui est des sauvageons, la période d'au moins 30 minutes nous apparaît suffisante pour permettre l'acclimatation aux nouvelles conditions d'éclairement. Donc, en dépit de l'absence de preuve directe, nous pouvons croire que l'environnement lumineux dans la chambre de fumigation n'a pas affecté les stomates.

Pour tenter d'expliquer la résistance de l'érable à sucre à l'ozone, Hibben (1969) propose que l'état de fermeture des stomates ferait partie des mécanismes possibles de protection. Chez les plantes fumigées au laboratoire, les stomates étaient ouverts alors qu'ils n'étaient que partiellement ouverts ou même fermés lors des fumigations au champ. Il faut garder à l'esprit la difficulté que pose une telle détermination. De plus, les différences dans les conditions

environnementales prévalant au laboratoire et au champ, ne peuvent être écartées comme facteur responsable de la différence de sensibilité observée par Hibben (1969). Cet auteur ne présente malheureusement ni d'analyse ni de discussion sur ce point.

Davies *et al.* (1974) de même que Kozlowski *et al.* (1974) ont démontré que la résistance stomatique par unité de surface foliaire de l'érable à sucre, espèce résistante à l'ozone et au bioxyde de soufre, était supérieure à celle du frêne d'Amérique, espèce sensible. La résistance stomatique pourrait donc expliquer, en partie, la résistance de l'érable à sucre.

Bosian (1968) a déterminé que l'ouverture des stomates n'avait que peu d'importance sur les échanges gazeux chez certaines espèces dont l'érable de Norvège. Ceci nous permet de spéculer qu'il pourrait en être de même pour l'érable à sucre. En dépit de notre incapacité à déterminer l'état d'ouverture des stomates chez nos spécimens, il apparaît vraisemblable que leur mouvement n'aurait que peu d'effet sur les échanges gazeux entre la plante et son environnement, ce qui inclus l'absorption de l'ozone et du bioxyde de soufre. Si tel est le cas, la résistance de l'érable à sucre tiendrait d'autres facteurs qu'une stratégie "d'évitement" impliquant la fermeture des stomates. À ce sujet, la grande résistance à l'ozone que nous avons observée peut paraître surprenante considérant le taux d'absorption rapporté par Townsend (1974). Ceci indiquerait une grande résistance naturelle impliquant les constituants membranaires ainsi que l'existence de mécanismes de détoxification efficaces.

E) Potentiel et limitations des chambres de croissance et d'exclusion

L'utilisation des plantes issues des chambres de croissance offre un avantage évident. Le contrôle sur certaines des conditions environnementales permet de limiter les variations

morphologiques et/ou physiologiques inhérentes à la réponse de la plante. Cependant, les plantes cultivées en environnement contrôlé présentent habituellement un phénotype différent de celui des plantes produites en nature (Raper & Downs, 1976). Ces différences réduisent l'utilisation des plantes issues des chambres de croissance à l'étude de processus biochimiques, biophysiques ou physiologiques, limitation qui découle de l'absence, en milieu contrôlé, de l'effet cumulatif de facteurs abiotiques et biotiques et de leurs interactions (Raper & Downs, 1976).

Depuis la publication par Heagle *et al.* (1973) d'un modèle particulier de chambre d'exclusion ("open-top chamber") pour l'étude au champ des polluants gazeux, le recours à ce type d'installation est devenu chose commune. À titre d'exemple, mentionnons les études récentes sur l'ozone de Amunsdon *et al.* (1991), d'Eissenstat *et al.* (1991), de Kramer *et al.* (1991), de Pleijel *et al.* (1991) puis de Saurer *et al.* (1991), et celles sur le bioxyde de soufre de Fulford & Murray (1990), de Murray & Wilson (1991), de Weigel *et al.* (1990) puis de Wilson & Murray (1990). Renaud *et al.* (1992) présentent une bonne revue du potentiel et des limitations des chambres d'exclusion (ou chambre à ciel ouvert).

Le fait que les chambres d'exclusion permettent l'action naturelle des précipitations (Heagle *et al.*, 1973), sans exclure la présence des insectes et des parasites fongiques et bactériens (Mandl *et al.*, 1973), a grandement contribué en faveur de leur utilisation. Ce point a également justifié notre choix pour les études à long terme.

Les conditions environnementales qui prévalent à l'intérieur d'une chambre d'exclusion se rapprochent des conditions naturelles (Heagle *et al.*, 1973; Olszyk *et al.*, 1980). Ainsi, Weinstock *et al.* (1982) n'ont rapporté qu'une hausse légère de la température et du point de rosée ainsi qu'une diminution minime de l'intensité lumineuse et de la vitesse du vent à

l'intérieur d'une telle chambre par rapport au champ. De plus, ces auteurs n'ont observé aucune différence de résistance stomatique, de potentiel hydrique ou de température de la feuille en relation avec la radiation incidente chez la vigne (*Vitis vinifera* L. cv. Concord) qui soit attribuable à la chambre (Weinstock *et al.*, 1982). Cependant, Heagle *et al.* (1988) ont rapporté des modifications dans la vitesse du vent, le profil de lumière et le gradient d'ozone à l'intérieur de telles chambres.

Cette similitude des conditions environnementales existant à l'intérieur des chambres d'exclusion et celles prévalant au champ n'est donc pas absolue de sorte que des différences dans la croissance des plantes peuvent être observées. Au cours d'une saison de croissance, ces variations semblent cependant se contrebalancer (Olszyk *et al.*, 1980). Ces auteurs soulignent que les différences observées au niveau du stress hydrique et de l'intensité lumineuse, à l'intérieur des chambres, pouvaient conduire à une mauvaise estimation de la sensibilité des plantes aux polluants gazeux (Olszyk *et al.*, 1980). Il s'agit là d'un point qu'il ne faut pas négliger. Heagle *et al.* (1988) croient que les variations microclimatiques dans les chambres ne portent pas à conséquence sur les mesures des effets de l'ozone sur le rendement.

L'incidence de "l'effet de chambre" sur l'estimation de la sensibilité de l'érable à sucre à l'ozone ne nous apparaît pas importante dans notre cas. D'une part, les paramètres PA mesurés chez les plantes provenant des diverses chambres n'ont pas présenté de différence significative, en dépit du traitement, ce qui écarte la possibilité d'une surévaluation de la sensibilité à l'ozone. D'autre part, il en a été de même lorsque l'on compare les plantes provenant des chambres contenant de l'air ambiant et celles provenant du champ. Il convient de signaler que la grande variabilité obtenue dans les mesures PA, risque de masquer des effets de faible amplitude et ainsi compliquer notre interprétation.

Le problème expérimental que constitue la détermination d'un contrôle ou d'une référence a été soulevé par Legge *et al.* (1991). L'approche habituelle consiste à utiliser de l'air filtré au charbon activé dans des installations du type chambre d'exclusion. Cependant, cette façon de procéder comporte les inconvénients suivants: variations des conditions environnementales par rapport à celles prévalant au champ, absence de variation dans la concentration d'ozone dont la valeur n'est pas nécessairement réaliste. En effet, même dans les endroits très peu pollués, la concentration, dont la valeur atteint rarement celle obtenue avec les filtres au charbon, présente une dynamique. Il en résulte une controverse sur l'utilisation d'air filtré et des chambres d'exclusion pour déterminer le comportement de plantes contrôles lors des études sur l'ozone (Howell *et al.*, 1979; Olszyk *et al.*, 1980, 1989; Lefohn *et al.*, 1989, 1990a).

Certaines mesures ont été effectuées sur des plantes maintenues dans des conditions aussi proches que possible de celles rencontrées en nature, voir sur des arbres matures en milieu forestier. Bien au-delà de nos propres résultats sur les effets de l'ozone, il faut néanmoins tenir compte du fait que les conditions sur le terrain peuvent être très variables d'un site à l'autre et plus particulièrement, elles peuvent différer de celles maintenues au laboratoire ou dans les chambres d'exclusion. C'est donc avec prudence qu'il faut entrevoir l'extrapolation des résultats, obtenus au laboratoire, aux conditions prévalant sur le terrain comme l'ont souligné Weinstein & McCune (1970) puis Raynal *et al.* (1982a, b).

F) Potentiel et limitations de la spectroscopie photoacoustique

L'un de nos objectifs consistait à évaluer le potentiel et les limitations de la SPA. À la lueur de nos résultats, il s'avère nécessaire de faire la distinction entre les facteurs limitants reliés à la technique et ceux reliés au matériel utilisé, à savoir des disques de feuilles.

1) Imputables à la technique

a) Plantes contrôles

Du point de vue pratique, l'application de la SPA à l'étude de stress en milieu naturel cause certains problèmes. Parmi ceux-ci, notons l'absence à l'heure actuelle, d'un appareil véritablement portable¹ disponible sur le marché, la lenteur relative de la méthode, lenteur inhérente au problème de prélèvement des spécimens, ainsi que la grande variabilité des paramètres PA indépendamment des conditions expérimentales. Un problème important auquel fait face cette technique est la nécessité d'un contrôle pour comparer chaque mesure.

La nécessité d'un contrôle limite l'utilisation de la SPA à des fins de diagnostics précoces puisque, par définition, il n'y a pas moyen de distinguer une plante contrôle d'une plante en voie de dépérissement. De façon générale, le problème de l'identification d'une référence valable se pose pour la plupart des techniques d'évaluation du dépérissement forestier (observation, visuelle, mesure de réflectance et de fluorescence,...). Cette référence se doit d'être stable dans le temps aussi bien que dans l'espace.

L'activité photosynthétique présente une mauvaise stabilité temporelle. Non seulement ce paramètre présente-t-il des variations au cours de la saison de croissance, ce qui nécessite une réévaluation du contrôle utilisé, mais de plus, des variations journalières peuvent également être observées, ce qui nécessite la prise en considération de ce point particulier. Le prélèvement des échantillons ne peut se poursuivre jusqu'au moment de la chute des feuilles. Lors de la sénescence automnale, de nombreux paramètres physiologiques et biochimiques

1 Mentionnons cependant qu'un spectromètre photoacoustique et de fluorescence portable est en voie de développement dans notre laboratoire (Bélanger, 1992).

subissent des changements importants (Spencer & Titus, 1972 et références citées). La photopériode et la thermopériode joueraient des rôles déterminants dans le déclenchement de la sénescence des feuilles. La sénescence doit donc être considérée dans un éventuel protocole de mesures sur le terrain. Les effets potentiels de la sénescence sur la physiologie de la plante, renforcent le caractère relatif de la méthodologie photoacoustique. Ainsi, l'évaluation des paramètres PA sur une plante contrôle à une date déterminée n'assure pas nécessairement la validité des mesures lors d'une comparaison avec un échantillon analysé à une date différente.

La stabilité spatiale réfère à l'homogénéité des paramètres (activité photosynthétique, surface foliaire,...) dans l'espace. Deux niveaux peuvent être distingués: les variations imputables aux différences environnementales entre deux sites, et celles attribuables à la position du spécimen dans la couronne de l'arbre. L'identification de plantes contrôles dans chacun des sites étudiés et un échantillonnage représentatif de la couronne entière devraient contourner ces problèmes de variabilité. À cette difficulté de trouver un contrôle "absolu" vient s'ajouter l'absence presque totale de régions témoins dépourvues de pollution.

Mentionnons que la SPA, telle que nous l'avons pratiquée, doit être considérée comme une technique semi-destructive. En effet, bien que le disque de feuille puisse servir pour d'autres mesures, comme le dosage des pigments, son utilisation se limite au moment précis où il est prélevé et pour les conditions particulières qui prévalent à cet instant.

b) Évaluation de la spectroscopie photoacoustique

En ce qui concerne la mesure de la photosynthèse, la SPA se compare avantageusement à une technique apparentée, la spectroscopie de déflexion photothermique

(effet mirage). Cette dernière ne permet pas la détection des échanges d'oxygène et demeure plutôt restrictive en ce qui concerne le type de spécimen à analyser. En effet, la spectroscopie de déflexion photothermique est confinée à l'analyse de spécimens plats et glabres, conditions à tout le moins limitatives (Havaux *et al.*, 1991; Lorrain *et al.*, 1990). De plus, les conditions dans lesquelles se trouve le spécimen (immersion dans l'eau), afin d'augmenter le rapport signal/bruit, peuvent être questionnées.

Alors que l'EEP ainsi que la composante d'oxygène nous renseignent sur deux aspects de l'activité photosynthétique de la feuille, la composante thermique maximale demeure indépendante de celle-ci. Elle traduit plutôt les caractéristiques d'absorption lumineuse du spécimen, de même que ses caractéristiques de transfert thermique et, possiblement, mécanique du signal. Puisque nous cherchions précisément à évaluer l'activité photosynthétique, il importe de s'assurer que les variations observées pour A_{O_2} et l'EEP résultent d'une réduction réelle de la photosynthèse et non pas d'une variation de T^m .

En dépit de l'augmentation considérablement d' A_{T^m} (51%) suite à une exposition à 3000 ppb d'ozone (semis), cette différence se révèle non-significative. Ce point soulève deux questions importantes: 1- cette situation est-elle attribuable au matériel, à la technique ou à une combinaison des deux?; 2- L'absence d'effet significatif, en dépit d'une augmentation de 51%, constitue-t-elle un handicap pour l'atteinte de certains de nos objectifs?. Nous tenterons de répondre à ces questions dans les prochaines pages.

Un facteur important risque de nous échapper lors de l'évaluation de l'activité photosynthétique, telle que mesurée en SPA. En effet, les mesures PA s'effectuent sur un disque de feuille dont la surface totale n'est que de 2.54 cm², dans le cas de notre cellule, et de 0.64 cm², dans le cas de la cellule MTEC (modèle 200) utilisée avec le spectrophotomètre

portatif (Bélanger, 1992). Ces spécimens ne représentent souvent qu'une fraction de la surface totale de la feuille analysée. En utilisant la surface moyenne de $44.0 \pm 0.5 \text{ cm}^2$, obtenue par Lei & Lechowicz (1990) pour des feuilles d'érables à sucre âgés de 15 ans, la surface d'un de nos disque n'en représente qu'environ 5%. Il y a donc matière à s'interroger sur la représentativité de ces disques. L'erreur potentielle dans l'estimation de l'activité photosynthétique d'une plante sera d'autant plus grande que cette fraction est petite (voir annexe III).

Les différents types de lésions causées par les polluants gazeux induisent une réduction plus ou moins importante de l'activité photosynthétique. Il convient alors d'examiner la répartition de ces lésions sur la feuille de façon à en évaluer l'influence sur la technique d'échantillonnage. De façon générale, les lésions induites par l'ozone apparaissent sur la portion apicale des plus jeunes feuilles. Elles progressent sur la surface entière ou vers la base chez les feuilles plus vieilles (Ledbetter *et al.*, 1959). De plus, il arrive que certaines portions ne présentent aucun signe d'exposition à l'ozone lorsqu'elles sont protégées par d'autres feuilles (Hill *et al.*, 1970). Il en découle qu'un prélèvement systématique dans une seule portion de la feuille risque soit de surestimer, soit de sous-estimer les effets réels selon la position échantillonnée. Par contre, nous avons mentionné qu'un prélèvement aléatoire sur des feuilles de grandes dimensions telles que l'érable à sucre introduisait une certaine variabilité dans les paramètres PA. La petitesse des spécimens utilisés pour les mesures avec cette technique semble donc un facteur limitatif important pour application dans le domaine de l'écophysiologie.

Il convient de souligner un autre problème inhérent aux dimensions de l'échantillon. Slack (1974) a démontré l'existence d'une grande variation dans la distribution des stomates de quatre variétés de pommiers. La variabilité s'observe non seulement entre les feuilles de diverses variétés mais également sur les feuilles d'une même variété. Ainsi, une

zone contenant peu de stomates devrait présenter moins de dommages qu'une autre qui en contient davantage. Puisqu'aucune tendance dans la distribution des stomates n'a pu être démontrée, un prélèvement aléatoire des échantillons semblerait convenable.

Dans cet ordre d'idées, une autre source importante d'erreur devra être considérée lors des études à long terme. Cette source réside dans la variation possible de la surface foliaire totale de la plante (nombre de feuille x surface individuelle). Pour bien évaluer l'activité photosynthétique de la plante entière, il faudra tenir compte de ce facteur et l'inclure dans un modèle mathématique simple.

Ces inconvénients ne sont cependant pas le propre de la SPA. Ils existent également pour la spectroscopie de fluorescence et pour les mesures d'échanges gazeux par un analyseur à infra-rouge. Dans le cas de nos études à court terme, il nous apparaît peu probable que les variations de la surface foliaire totale viennent influencer nos résultats. Cependant, nous n'avons pas considéré ce paramètre lors de notre étude sur les effets à long terme de l'ozone. Pour cette raison, nous ne sommes pas en mesure d'évaluer l'importance de la variation de la surface foliaire des sauvageons et des arbres à différents niveaux de dépérissement sur notre évaluation de l'activité photosynthétique de la plante entière. Le problème risque d'être encore plus important si l'étude se poursuit sur plus d'une saison et plus particulièrement si le stress étudié induit des modifications (morphologiques ou physiologiques) qui se répercutent sur la saison de croissance suivante ("carry-over effect").

Charland *et al.* (1992) ont démontré la complexité de la composante photobarique dans les feuilles et plus particulièrement chez l'érable à sucre. Cette complexité résulte de la contribution possible de phénomènes consommateurs d'oxygène (respiration, chlororespiration, photorespiration et réaction de Melher) au signal photoacoustique. La

composante photobarique, telle que mesurée lors de nos expériences, correspond à la résultante de toutes ces contributions. Les informations ainsi recueillies ne permettent donc pas de faire la distinction entre une réduction de la production d'oxygène et une augmentation des processus consommateurs.

Puisque de nombreux stress sont susceptibles de provoquer une modification de la production ou de la consommation d'oxygène, l'inaptitude de la SPA à distinguer facilement les deux mécanismes en limite l'application ou du moins l'interprétation des résultats. Il faut cependant noter qu'une telle limitation existe pour d'autres systèmes de mesure d'échanges d'oxygène sur les feuilles entières, comme c'est le cas pour ceux fonctionnant avec une électrode du type Clark.

Le dégagement d'oxygène que nous avons mesuré corresponde à un état stationnaire où il y a équilibre entre les divers mécanismes de production et de consommation. Il s'agit donc du dégagement net d'oxygène. L'exposition de nos disques de feuilles à la lumière d'un projecteur, avant la prise des mesures, expliquerait pourquoi nous n'avons pas observé la cinétique de dégagement d'oxygène rapportée par Charland *et al.* (1992).

Parmi les nombreux facteurs envisageables pour expliquer la variabilité du signal PA que nous avons observée, il nous apparaît intéressant de faire quelques remarques sur la fluorescence. Il semble qu'il faille réviser notre position qui consiste à négliger sa contribution dans le bilan énergétique de la feuille lors des mesures PA. Une preuve indirecte de l'importance de la fluorescence en tant que mécanisme de désexcitation et de sa quantification possible en SPA provient des diverses études au cours desquelles cette technique fut utilisée pour mesurer l'atténuation de fluorescence (Vacek *et al.*, 1979; Snel *et al.*, 1990).

En dépit de ce fait, la comparaison de résultats obtenus en SPA avec ceux obtenus en spectroscopie de fluorescence ne devrait pas se faire sans considérer en détail le point suivant. Le signal PA dans la feuille origine d'une portion variable du volume de celle-ci, le volume contribuant au signal est d'autant plus important que la fréquence de modulation est petite. Pour ce qui est du signal de fluorescence, ce dernier provient essentiellement de la surface de la feuille analysée. Ceci tient des propriétés optiques de la feuille qui occasionnent une dispersion de la fluorescence produite dans les assises cellulaires situées en profondeur. Cette fluorescence ne parvient pas au détecteur parce qu'elle a été dispersée ou réabsorbée.

L'utilisation d'un faisceau d'analyse monochromatique pour la détermination de l'activité photosynthétique de la feuille comporte un inconvénient dont l'importance demeure indéterminé. Cet inconvénient tient du fait qu'éclairer le spécimen à une longueur d'onde unique ne donne pas une idée exacte de ce qui se passe en conditions naturelles, c'est-à-dire lorsque la feuille reçoit de la lumière polychromatique. Lors d'une étude théorique sur l'influence de la fluorescence sur les gradients de lumière dans les feuilles, Lork & Fukshansky (1985) ont rapporté une variation de l'ordre de 20% dans l'intensité lumineuse à une profondeur de 250 μm . Cette valeur a été obtenue en supposant un rendement quantique pour la fluorescence de 1%. Ces auteurs estiment qu'un rendement quantique de 5% doublerait la quantité de lumière présente en profondeur dans la feuille aux longueurs d'onde voisines de 685 nm (Lork & Fukshansky, 1985). Bien que le modèle qu'ils ont présenté ne tient pas compte de l'organisation stratifiée de la feuille, ni de l'effet de tamis ("sieve effect"), leurs résultats démontrent bien l'influence de la fluorescence sur l'environnement lumineux dans la feuille.

Concernant la grande variabilité observée dans nos paramètres PA avec l'érable à sucre, elle s'apparente à celle présentée dans un rapport du Ministère de l'Environnement de

l'Ontario (Anonyme, 1990). Les auteurs présentent dans ce rapport un indice de dépérissement ("decline index") basé sur des observations visuelles de l'arbre. Leurs résultats indiquent un coefficient de variation de 123% pour 8309 observations d'érables à sucre. Sur 25 espèces d'arbre, le coefficient de variation de l'indice de dépérissement varie entre 29 et 154%, l'érable à sucre se classant 21^e. En fait, plus de la moitié des espèces analysées présentaient un coefficient de variation supérieur ou égale à 100%. Ces résultats indiquent clairement la grande variabilité (intra- et inter-spécifique) dans la réponse des arbres aux stress environnementaux. Cependant, ils ne font pas ressortir les variations au sein d'une même plante ou d'une même feuille, qui se retrouvent intégrées dans l'indice de dépérissement.

Nous avons été incapable, lors de cette étude, de démontrer un effet de l'ozone et du bioxyde de soufre sur l'activité photosynthétique de l'érable à sucre aux concentrations, même les plus élevées, se retrouvant dans la nature. Bien que la grande résistance de l'érable à sucre en soit vraisemblablement la cause, nos observations ne semblent pas indiquer la pertinence de la SPA dans le diagnostic précoce de stress affectant des espèces résistantes ou dans l'identification du stress lui-même. Cependant, la SPA a fait ses preuves dans l'étude de la photosynthèse et de ses mécanismes (chapitre IV). C'est probablement dans ce domaine qu'elle va se distinguer dans le futur.

2) Imputables au matériel utilisé

Les caractéristiques (rapport S/B, rapidité d'acquisition,...) des résultats obtenus en SPA ne tiennent pas exclusivement des performances de l'appareil. Comme nous allons le voir, la nature même du spécimen joue un rôle important dans la génération du signal. Nous pouvons considérer dans cette section non seulement la nature du matériel, à savoir une feuille

avec toute la complexité structurale que cela comporte, mais également la forme sous laquelle nous l'étudions, c'est-à-dire un disque.

Nous avons vu que l'une des limitations attribuables à la technique réside dans les dimensions limitées du spécimen analysé. Un autre inconvénient potentiel dans notre façon de prélever les spécimens se rapporte au fait que nous travaillons avec des disques prélevés sur une feuille, donc détachés de la plante. Sur ce point, il nous faut mentionner que la SPA, à l'exception des appareils utilisant une cellule dont l'une des extrémités est ouverte (Poulet & Chambron, 1982-1983; De Paula *et al.*, 1987; Marquezini *et al.*, 1990), ne permet pas de faire des mesures *in vivo* dans le sens strict du terme.

Bien qu'*a priori*, les systèmes étudiés devraient se comporter comme l'organisme d'origine, la mort à plus ou moins court terme demeure l'issue du spécimen. Ceci impose donc une certaine restriction temporelle en ce qui concerne la durée pendant laquelle les mesures peuvent être effectuées. Bien que nous n'ayons pas cherché à déterminer la période de stabilité physiologique pour l'érable à sucre, nous pouvons affirmer qu'elle dépasse largement 1 h à partir du moment où le disque est enfermé dans la cellule PA (résultats non présentés). Ce temps est donc suffisant pour effectuer un nombre appréciable de mesures sans que l'on puisse noter de réduction dans l'activité photosynthétique.

Le recours aux disques ou fragments de feuilles en physiologie végétale n'a rien de nouveau. Ainsi, on y a eu recours pour des mesures d'échanges gazeux (Bartoš *et al.*, 1960; Nátr & Špidla, 1961; Goldsworthy, 1966; Nátr, 1969; Tamas & Bidwell, 1970; Atkins & Canvin, 1971; Harris *et al.*, 1983; Aro *et al.*, 1986), pour le marquage au $^{14}\text{CO}_2$ (Hess & Tolbert, 1966), pour la quantification du photosystème II (Chow *et al.*, 1989, 1991) et pour diverses mesures physiologiques (D'Aoust & Hubac, 1986; Martin *et al.*, 1987; Charland, 1989;

El-Shintinawy & Govindjee, 1990; Koizumi *et al.*, 1990; Caldwell, 1993). De plus, de nombreux systèmes de mesure utilisent actuellement ce type de spécimen. Il suffit de mentionner certaines électrodes du type Clarck (système Hansatek) et la plupart des fluorimètres.

Cependant, comme l'ont soulevé Tamas & Bidwell (1970), il importe de vérifier si, sous des conditions physiologiques identiques, le métabolisme des disques (échanges de CO_2 , d' O_2 ,...) se compare à celui de la feuille entière. À ce sujet, Atkins & Canvin (1971) ont établi que le taux de fixation du CO_2 des disques de feuille se compare de façon satisfaisante avec celui de la feuille encore attachée à la plante.

Ce point nous permet donc de croire que les réponses observées avec nos disques reflètent bien le comportement des feuilles dont ils sont issus. Cependant, les mesures de fixation photosynthétique du CO_2 qu'Atkins & Canvin (1971) ont obtenues étaient inférieures (de 30 à 40%) à celles de la feuille entière. Nous ignorons si une telle différence existe dans le cas des mesures PA. Il semble que pour des comparaisons contrôle/traité le recours aux disques de feuille soit satisfaisant.

En ce qui concerne les feuilles d'érable à sucre, un premier problème réside dans l'existence d'une asymétrie fonctionnelle. Cette situation semble prévaloir chez les feuilles des plantes de milieu ouvert alors que les feuilles morphologiquement asymétriques¹ de plantes de sous-bois sont fonctionnellement symétriques. (DeLucia *et al.*, 1991). L'asymétrie fonctionnelle se traduit par une réponse différente du disque de feuille selon que l'on illumine sa face supérieure ou sa face inférieure. Les mesures obtenues sont donc relatives à la face illuminée.

1 Cette asymétrie morphologique fait référence à l'organisation des cellules en tissus distincts selon le plan paradermal.

Patton & Jones (1989) ont démontré l'interaction entre l'anatomie foliaire et l'activité photosynthétique chez quatre cultivars de saule (*Salix* sp.). Les résultats d'Harnischfeger & Zenk (1983) soulignent le fait que la structure foliaire devraient être considérée lors de l'évaluation de la distribution de l'énergie chez les plantes supérieures. L'influence possible de la morphologie de la feuille sur la sensibilité des plantes au bioxyde de soufre a été soulevé par Winner & Mooney (1980).

L'éclairement unilatéral des spécimens dans la cellule PA risque de poser un problème dans le cas des feuilles à orientation horizontale comme c'est le cas pour l'érable à sucre. Une mauvaise évaluation de l'activité photosynthétique risque d'avoir lieu si de telles feuilles sont positionnées de sorte que leur face abaxiale (ventrale) est exposée au faisceau d'analyse. Cette asymétrie dans l'activité photosynthétique a d'ailleurs été rapportée par Moss (1964), Vaclavik (1984), Day *et al.* (1990), de même que DeLucia *et al.* (1991). Cette situation ne semble cependant pas exister chez les feuilles à port vertical (DeLucia *et al.*, 1991). La symétrie fonctionnelle serait reliée à l'orientation de la feuille sur la plante.

Comme l'ont avancé DeLucia *et al.* (1991), cette différence dans la réponse des feuilles, selon l'orientation de la source de lumière, résulte probablement d'interactions complexes entre la lumière et la feuille attribuables aux propriétés optiques particulières de cette dernière. L'une des conséquences intéressantes de cette asymétrie structurale est l'établissement d'un gradient important de l'intensité lumineuse lors du passage de la lumière dans la (les) assise(s) de parenchyme palissadique (Knapp *et al.*, 1988; Vogelmann, 1989; Vogelmann *et al.*, 1989).

De façon parallèle, la teneur en chlorophylle par unité de surface diminue de façon marquée du parenchyme palissadique au parenchyme lacuneux (Knapp *et al.*, 1988). En dépit

de cette différence dans la teneur en chlorophylle par unité de surface entre les deux parenchymes, il semble que l'absorption de la lumière (RAP) serait plus importante par le parenchyme lacuneux, lorsqu'on éclaire la feuille du côté abaxial, que par le parenchyme palissadique, lorsqu'on éclaire la feuille du côté adaxial (Terashima & Saeki, 1983, 1985).

Aux limitations imposées par les particularités morphologiques de la feuille vient s'ajouter la spécialisation des chloroplastes retrouvés dans les deux types de parenchyme (Terashima & Inoue, 1984). Les caractéristiques spécifiques des chloroplastes de chaque parenchyme confèrent une asymétrie dorsi-ventrale aux feuilles de nombreuses espèces. Les particularités morphologiques et fonctionnelles des chloroplastes retrouvés dans les deux parenchymes permettent de les distinguer les uns des autres. Ainsi, les chloroplastes du parenchyme palissadique présentent des caractéristiques que l'on associe à une exposition aux fortes intensités lumineuses, ceux du parenchyme lacuneux à une exposition aux faibles intensités lumineuses (Sharkey, 1985). Il est d'usage de parler de chloroplastes "de soleil" et de chloroplastes "d'ombre".

La présence d'un gradient dans certains paramètres (masse foliaire spécifique¹, activité photosynthétique et accumulation de l'amidon) a été démontré chez les feuilles de tabac (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun)(Baldy & Le Buhan, 1971). Un tel gradient dans l'activité photosynthétique a d'ailleurs été rapporté par Slavík (1963) chez cette même espèce. De plus, un gradient dans la teneur en pigments des feuilles de haricot (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Sabor Processor) a été rapporté par Bolhàr-Nordenkamp & Grünweis (1987). Ces variations pouvaient atteindre 30% entre deux positions sur la même feuille. Ces auteurs ont également

1 La masse foliaire spécifique ("specific leaf weight" ou SLW) ou masse surfacique se calcule de la façon suivante: masse foliaire / surface foliaire. Ce paramètre donnerait une bonne indication de l'épaisseur de la feuille et du niveau de développement du mésophylle (Jurik, 1986b). Baldy & Le Buhan (1971) utilisent l'expression masse surfacique pour désigner la masse foliaire spécifique.

observé des modifications dans la distribution des pigments en fonction de divers traitements (Bolhàr-Nordenkampf & Grünweis, 1987).

Baldy & Le Buhan (1971) conclurent que l'activité photosynthétique des feuilles de tabac, en plus de varier dans le temps en fonction de l'âge de la feuille, présente une distribution privilégiée de sorte que la feuille possède des zones de forte et de faible photosynthèse. Tout comme ces auteurs, nous croyons que la photosynthèse moyenne d'une feuille, évaluée à partir d'un disque ou d'un segment, doit se faire sur un spécimen représentatif qu'il faudra identifier pour chaque espèce. La possibilité d'une mauvaise évaluation augmente donc en fonction des dimensions de la feuille. *A priori*, toutes les conditions environnementales sont susceptibles d'intervenir sur l'établissement des gradients morphologiques et d'activité photosynthétique.

Un autre problème peut s'ajouter à ceux dont nous venons de discuter. Celui-ci survient lorsque l'on travaille avec des végétaux de grande taille comme certains arbres. Ces plantes peuvent posséder une organisation du feuillage suffisamment complexe pour permettre la formation d'un gradient dans les conditions environnementales à l'intérieur de la couronne. Des différences morphologiques et physiologiques importantes peuvent alors apparaître chez certaines feuilles en fonction de leur position sur la plante. Le phytochrome, une molécule impliquée dans divers processus de morphogénèse (Furuya, 1993; Vierstra, 1993), démontre une sensibilité particulière aux variations dans la quantité et la qualité de la lumière reçue par la plante (Mancinelli, 1991 et références citées).

Soulignons le gradient observé par Morrison (1985) et par McLaughlin *et al.* (1985) dans la composition élémentaire des feuilles d'érable, les feuilles du haut présentant une moins grande concentration que celles de la base. De plus, une réduction exponentielle de la masse

foliaire spécifique du haut vers la base de la couronne (Coyne & van Cleve, 1977; Lewandowska & Jarvis, 1977; Schulze *et al.*, 1977; van Elsacker & Impens, 1984), accompagnée d'une augmentation de l'indice de surface foliaire ont été rapportées (Jurik, 1986b). Un autre exemple est le cas des feuilles d'ombre et des feuilles de lumière. À cet effet, Jurik *et al.* (1979) de même que Lichtenthaler (1985) ont démontré l'influence de l'intensité lumineuse sur la morphologie foliaire (tableau 19) et sur l'activité photosynthétique (tableau 20). L'augmentation en épaisseur des feuilles et du volume des cellules du mésophylle qu'ils ont rapportée est en accord avec les observations de Nobel *et al.* (1975), Nobel (1977). Dans le cas de l'érable à sucre, Hesketh (1963) a obtenu des épaisseurs du limbe pour des feuilles de soleil variant entre 150 et 200 μm . D'un autre côté, Lei & Lechowicz (1990) rapportent une épaisseur de $75.8 \pm 5.3 \mu\text{m}$ pour les feuilles d'arbres âgés de 15 ans. Cette différence tient probablement de la provenance des feuilles en fonction de leur environnement lumineux.

Parmi les réponses physiologiques aux faibles intensités lumineuses mentionnons: la réduction de la quantité de Rubisco, l'augmentation de la concentration en chlorophylle, la réduction du point de saturation lumineuse et la réduction de la respiration mitochondriale (Boardman 1977, Chabot & Chabot, 1977), la réduction de l'épaisseur du limbe et l'augmentation de la surface foliaire (Lichtenthaler, 1985).

Ces exemples démontrent bien l'action morphogène de la lumière. Cependant, il ne semble pas possible de tirer de conclusion générale en ce qui concerne le potentiel du gradient de lumière et de ses effets sur l'organisation morphologique (macro- et microscopique) des feuilles. Schwarz (1988) n'a observé aucune influence dans l'ultrastructure des chloroplastes des assises de parenchyme palissadique et lacuneux du pois (cv. Dippes Gelbe Viktoria) de type sauvage. Kutfk (1989) a obtenu des résultats similaires avec des feuilles de haricot (cv. Harzgruss) de différents âges. Enfin, la variation d'autres facteurs (température, humidité

Tableau 19

Quelques caractéristiques morphologiques de feuilles¹ exposées à différentes conditions d'éclairement

CARACTÉRISTIQUES / TYPE DE FEUILLE	Soleil + ²	Soleil	Ombre	Ombre +
rapport chlorophylle <i>a/b</i>	4.0 - 5.0	3.3 - 4.2	2.6 - 2.9	2.6 - 2.8
surface foliaire moyenne (cm ²)	15	25	38	55
nombre de nervures latérales (par demie-feuille)	6 - 7	8 - 9	9 - 10	10 - 11
densité stomatique (mm ⁻²)	217 ± 13	214 ± 26	144 ± 11	151 ± 10
nombre total de stomates par feuille (x10 ³)	325 ± (6%)	525 ± (12%)	547 ± (8%)	830 ± (7%)
épaisseur totale de la feuille (µm)	201	171	92	93
épaisseur de l'épiderme supérieur (µm)	15 ± 1	13 ± 1	11 ± 1	11 ± 1
épaisseur de l'assise supérieure du parenchyme palissadique (µm)	60 ± 5	51 ± 7	-	-
épaisseur de l'assise inférieure du parenchyme palissadique (µm)	43 ± 6	32 ± 4	-	-
épaisseur totale du parenchyme palissadique (µm)	103 ± 8	83 ± 9	34 ± 7	29 ± 5
épaisseur du parenchyme lacuneux (µm)	69 ± 10	63 ± 11	36 ± 6	42 ± 6
épaisseur de l'épiderme inférieur (µm)	14 ± 1	12 ± 1	11 ± 1	11 ± 1
épaisseur du parenchyme palissadique / parenchyme lacuneux	1.5 ± 0.1	1.3 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.7 ± 0.04

(Tiré de Lichtenthaler, 1985)

1 Feuilles pleinement développées de hêtre européen. Valeurs moyennes de 20 feuilles récoltées en juillet.

2 Soleil+ : "extreme sun leaf"; Soleil : "sun leaf"; Ombre : "shade leaf" ; Ombre+ : "extreme shade leaf".

Tableau 20

Activité photosynthétique et respiration de feuilles¹ en fonction de l'intensité lumineuse

TYPE DE FEUILLE	RAPPORT CHLOROPHYLLE <i>a/b</i>	TAUX PAR UNITÉ DE SURFACE (mg CO ₂ · dm ⁻² · h ⁻¹)		TAUX PAR UNITÉ DE CHLOROPHYLLE (mg CO ₂ · mg ⁻¹ chlorophylle · h ⁻¹)	
		PHOTOSYNTHÈSE	RESPIRATION	PHOTOSYNTHÈSE	RESPIRATION
de plein soleil	5.0 [100%] ²	3.79 [100%]	0.46 [100%]	1.30 [100%]	0.16 [100%]
de soleil	3.9 [78%]	2.96 [78%]	0.44 [96%]	0.61 [47%]	0.09 [56%]
d'ombre	2.8 [56%]	0.89 [23%]	0.19 [41%]	0.23 [18%]	0.05 [31%]
d'ombre complète	2.7 [54%]	0.73 [19%]	0.16 [35%]	0.18 [14%]	0.04 [25%]
de soleil / d'ombre		3.3	2.3	2.7	1.8
de plein soleil / d'ombre complète		5.2	2.9	7.2	4.0

(Tiré de Lichtenthaler, 1985)

1 Feuilles pleinement développées de hêtre européen. Mesures effectuées sous une intensité lumineuse de 30 klux.

2 Valeurs exprimées en pourcentage de la valeur pour une feuille de plein soleil.

relative, composition gazeuse de l'air, précipitations,...) risquent également de causer des modifications morphologiques de la feuille.

Plusieurs facteurs impliqués dans la génération du signal varient en fonction d'une adaptation de la feuille à son environnement lumineux (tableaux 19 et 20). Il en est ainsi pour la quantité de chlorophylle qui affecte l'absorption lumineuse et pour l'épaisseur des assises tissulaires qui détermine la couche contribuant au signal. De plus, les variations, dans des proportions différentes, de l'activité photosynthétique et de la respiration mitochondriale devraient affecter la composante d'oxygène mesurée en SPA. Nous présentons, au tableau 21, d'autres adaptations caractéristiques des feuilles de soleil. L'ensemble de ces modifications rend difficile la comparaison des feuilles provenant d'environnements lumineux différents. Ce problème n'existait pas dans le cas des semis et des sauvageons dont le nombre de feuilles est trop petit pour produire un gradient lumineux.

La surface, l'épaisseur et la densité peuvent varier considérablement entre les feuilles d'une même plante ou entre les plantes d'une même espèce en fonction de la qualité et la quantité de la lumière, la biodisponibilité des éléments nutritifs et le régime hydrique (Witkowski & Lamont, 1991 et références citées). Une diminution des facteurs suivants provoque une augmentation en épaisseur de la feuille: les précipitations, l'humidité relative, la fertilité du sol (Witkowski & Lamont, 1991) et l'intensité lumineuse (Beadle, 1966; Nobel *et al.*, 1975; Givnish & Vermeij, 1976; Chabot & Chabot, 1977; Givnish, 1978; Sobrado & Medina, 1980). Les répercussions de ces gradients dans les conditions environnementales ne doivent pas être sous-estimées lors d'éventuelles études sur des arbres de grande taille.

Logan & Krotkov (1968) ont démontré les effets de la lumière chez l'érable à sucre. L'exposition de semis d'érable à sucre, pendant trois années consécutives, à diverses intensités

Tableau 21**Adaptations caractéristiques observées chez les feuilles de soleil ou produites sous une haute intensité lumineuse**

limbe foliaire plus épais mais de surface réduite
masse sèche plus élevée et contenu en eau réduit
cellules du parenchyme palissadique plus longues, 2 rangées souvent présentes
densité stomatique plus élevée et résistance à la diffusion des stomates réduite
nombre plus élevé de chloroplastes par cellule
conductivité augmentée du CO ₂ par unité de surface foliaire
taux augmenté de fixation photosynthétique du CO ₂
point plus élevé de saturation lumineuse de la photosynthèse
niveaux plus élevés des hydrates de carbone solubles et de l'amidon
contenus en ubiquinones ¹ et taux de respiration plus élevés
activité de la glycolate oxydase accrue et quantité de malate plus élevée
contenu en chlorophylles et en caroténoïdes par unité de surface foliaire accrus
contenu en chlorophylles et en caroténoïdes par unité de masse fraîche ou sèche accrus
quantité de lipide et de cutine par unité de masse sèche accrues
niveau de protéines solubles et liées réduits
quantité d'acides aminés solubles souvent réduite
contenu en lignine accru et niveau de flavonols ² accru
contenu en cytokinines ³ accru

(Tiré de Lichtenthaler, 1985)

- 1 Transporteurs d'électron très mobile médiant les transfert d'électrons entre une flavoprotéine et le cytochrome dans la chaîne de transport d'électron.
- 2 Dérivés hydroxylés des flavones à partir desquels certains pigments jaunes sont synthétisés.
- 3 Groupe d'hormones dérivées de l'adénine qui induisent la division cellulaire et la formation des bourgeons, et qui retardent la sénescence.

lumineuses (de 13 à 100% l'intensité en plein soleil) n'a pas eu d'effet sur la surface moyenne des feuilles. Cependant, l'augmentation de l'intensité lumineuse était corrélée à une augmentation du nombre de feuilles par semis, et de ce fait, de la surface foliaire totale. L'augmentation de l'intensité lumineuse était également corrélée à une réduction de la concentration de chlorophylle par feuille.

Ces auteurs ont comparé l'activité photosynthétique (en terme de fixation du CO_2) de semis de plein soleil (100%) avec celle de semis n'ayant reçu que 13% de cette intensité. Ils ont constaté qu'elle était inférieure chez les premier (100%) lorsqu'ils exprimaient l'activité par unité de surface foliaire, alors qu'elle s'avérait supérieure quand elle était exprimée par semis (Logan & Krotkov, 1968). Ces observations mettent en évidence la faiblesse d'évaluer l'activité photosynthétique uniquement sur des spécimens de mêmes dimensions, sans tenir compte des variations de la surface foliaire totale au cours d'une saison de croissance.

Sur ce point, Logan & Krotkov (1968) conclurent qu'il est plus juste d'exprimer l'activité photosynthétique par plante plutôt que par unité de surface foliaire. Cette façon de procéder permet de tenir compte des effets opposés d'une augmentation de l'intensité lumineuse sur la surface foliaire totale et sur le taux de photosynthèse apparente.

Cet inconvénient ne peut cependant pas être retenu dans le cas de nos expériences de fumigation à court terme où aucune variation significative de la surface foliaire, attribuable au traitement, ne peut survenir.

Nous avons déjà soulevé le problème causé par les variations intra-spécifiques. Sur ce point, Kriebel (1957) a démontré l'influence du patrimoine génétique de l'érable à sucre sur sa résistance à divers stress environnementaux. Cet auteur a observé des différences

significatives au niveau de la tolérance de l'érable à sucre aux stress thermiques (chaleur élevée) et hydriques (sécheresse) de même que l'endurcissement au froid en fonction de la provenance des spécimens. Ces différences s'expliquent par une combinaison des effets de l'expression du génome (facteur génétique interne) chez les différents écotypes, et de l'influence de l'environnement propre à chaque site (facteur environnemental externe). Il résulte, de l'effet combiné de ces facteurs, des différences significatives au niveau de phénomènes physiologiquement importants tels la période d'éclosion des bourgeons et de la chute des feuilles. Ces différences, combinées à la susceptibilité aux stress environnementaux d'un écotype particulier vont déterminer de façon prépondérante la réponse de la plante lors d'une exposition à un polluant.

En ce qui concerne l'influence des conditions environnementales sur l'érable à sucre, Ledig & Korbobo (1983) ont observé des différences significatives au niveau de l'activité photosynthétique et de la respiration mitochondriale chez des spécimens prélevés dans une même région mais à différentes altitudes. Ce point constitue un facteur supplémentaire de variabilité à considérer advenant l'utilisation éventuelle de la SPA sur le terrain

Innes & Boswell (1990) ont étudié la variabilité entre les arbres d'un site donné et entre ceux de deux sites différents. Selon leurs observations de la densité et de la décoloration du feuillage, la variation à l'intérieur d'un site est moindre qu'entre les peuplements. Cependant, la variation intra-peuplement est significative, même dans un peuplement équienné, et elle devrait être considérée pour déterminer le nombre d'arbres à échantillonner.

Ceci nous ramène donc à la nécessité d'utiliser un contrôle de même provenance que les spécimens analysés sur le terrain ou suite à un traitement au laboratoire. En ce qui concerne les résultats obtenus au laboratoire, leur extrapolation à l'espèce entière demeure donc

délicate. Ce point est d'autant plus valable lorsque l'espèce occupe une aire de distribution présentant une grande variabilité dans les conditions écologiques et/ou lorsqu'elle est vivace comme c'est le cas pour l'érable à sucre.

La faible activité photosynthétique de l'érable à sucre (Hesketh, 1963; Ledid & Korbobo, 1983; Weber *et al.*, 1985; Amthor *et al.*, 1990) constitue un point qui joue en défaveur de son utilisation en SPA. Cette faible valeur se traduit par une petite variation du signal PA en présence de lumière saturante (Q_{ma}) par rapport au signal sans cette lumière (Q_m). Ceci, le mauvais rapport S/B inhérent à la nécessité de travailler à faible intensité lumineuse (faisceau d'analyse) afin de ne pas saturer la photosynthèse, de même que la variabilité intra-spécifique dont nous venons de faire mention ont eu un effet déterminant sur nos résultats.

G) Discussion générale

La résistance de l'érable à sucre que nous avons observée ne semble pas se limiter à l'ozone et au bioxyde de soufre. En effet, Raynal *et al.* (1982a) ont démontré l'insensibilité des graines de cette espèce à l'effet du pH (entre 3.0 et 5.0), graines qui n'ont pas présenté de différences significatives dans leur taux de germination en fonction du pH de la solution d'arrosage à laquelle elles étaient soumises. D'ailleurs, ces résultats se comparent bien à ceux de Lee & Weber (1980) pour l'érable à sucre. Deux autres espèces de feuillus, le bouleau jaune (*Betula alleghaniensis* Britton) et l'érable rouge (*Acer rubrum* L.) présentaient une baisse significative de leur taux de germination à pH 3.0 (Raynal *et al.*, 1982a). L'acidité des précipitations n'aurait, tant qu'à elle, pas d'effet direct sur l'activité photosynthétique ou la croissance de l'érable à sucre (Reich *et al.*, 1983, 1986). La résistance de cette espèce à également été observé par Thornton *et al.* (1986) lors d'une étude sur l'effet de l'aluminium

sur la croissance. En effet, ces auteurs n'ont obtenu aucun dommage aux racines et aux tiges contrairement à ce qui fut rapporté pour d'autres espèces (Thornton *et al.*, 1986, et références citées).

Afin d'exploiter au maximum le potentiel de la SPA, nous proposons certaines recommandations. À la lueur de nos résultats et d'une consultation approfondie de la littérature sur le sujet, il appert que cette technique offre un meilleur potentiel lorsqu'elle est utilisée pour l'analyse des mécanismes photosynthétiques. Ceci est particulièrement vrai pour l'étude des mécanismes biophysiques, et à un degré moindre, pour l'étude des mécanismes biochimiques. La facilité relative avec laquelle l'expérimentateur peut intervenir sur le système sous étude permet d'établir, sans trop d'incertitude, des hypothèses de cause à effet. Si le phénomène observé découle d'une cascade d'effets, comme c'est le cas lorsque des modifications d'ordres physiologique ou morphologique interviennent, il devient plus difficile, voir impossible, d'établir cette relation de causalité.

Ce dernier point nous amène à notre deuxième recommandation. Nous avons observé une grande variabilité dans les paramètres PA et ce, en dépit des diverses stratégies d'échantillonnage utilisées. Cette variabilité tient à la fois de la petite dimension de l'échantillon analysé, effet potentiellement plus important que la feuille à analyser est grande, et de la variabilité individuelle au sein d'une même plante et entre plantes différentes. Nous ne croyons pas qu'une augmentation, même importante de la surface d'analyse suffirait pour résoudre ce problème. La conception d'une cellule PA pouvant recevoir des spécimens de grande dimension comporte des problèmes d'ordre technique principalement liés à la baisse appréciable du rapport S/B (Ducharme *et al.*, 1979). Il semble donc peu probable qu'on assiste à des progrès considérables dans ce domaine. Pour tenter de compenser pour cette variabilité, il devient nécessaire de faire appel à une technique d'échantillonnage adéquate qui sera choisie

en fonction des paramètres étudiés, de l'espèce choisie, et du type d'analyse statistique appliquée.

Cette "faiblesse" de la technique est exacerbée par l'inadéquation des modèles et théories photoacoustiques actuels qui ne tiennent pas compte de la nature hétérogène de la feuille. Nous avons discuté des effets de cette hétérogénéité sur la distribution de la lumière dans la feuille et sur l'activité photosynthétique des différents tissus. Son importance sur la génération du signal PA (composantes photothermique et photobarique) mériterait d'être étudiée en détail.

Dans le cas d'une utilisation éventuelle sur le terrain, nous préconisons une approche multidisciplinaire. La SPA viendrait fournir des informations complémentaires qui pourraient permettre de mieux comprendre l'effet(s) du facteur étudié. Parce que de nombreux facteurs agissent directement ou indirectement sur les mécanismes primaires de la photosynthèse il apparaît peu probable que la SPA puisse être utilisée pour identifier la cause du stress présent. Ce point est d'autant plus valable que dans la nature, les facteurs environnementaux agissent rarement seul comme l'ont démontré (McLaughlin *et al.*, 1985) pour l'érable à sucre.

Nous avons démontré la résistance à court terme de l'érable à sucre à l'ozone et au bioxyde de soufre. Les résultats des mesures effectuées sur les sauvageons exposés aux conditions des chambres d'exclusion ne nous permettent pas de conclure à un effet inhibiteur de l'ozone. Ces conditions nous donnent une meilleure appréciation des effets potentiels de l'ozone en milieu naturel. Des études à plus long terme seraient nécessaires pour une meilleure compréhension des effets cumulatifs sur plus d'une saison.

Jurik (1986b) a obtenu une mauvaise corrélation entre le taux d'échange de CO₂ et la variation spatiale et temporelle de la masse foliaire spécifique chez l'érable à sucre. D'autres

espèces ligneuses ont cependant donné de meilleurs coefficients de corrélation (tableau 22). Cette observation laisse sous-entendre: 1- une plus grande variabilité de l'activité photosynthétique et/ou de divers paramètres morphologiques, telle que la masse foliaire spécifique, ce qui expliquerait la grande plasticité écologique de l'érable à sucre (espèce de lumière démontrant une grande tolérance à l'ombre), 2- une moins grande dépendance du taux d'échange de CO₂ envers les paramètres morphologiques des feuilles d'érable à sucre. En fait, des six espèces étudiées, c'est avec l'érable à sucre qu'ils ont obtenu la plus faible corrélation pour la relation entre le taux de fixation du CO₂ et la surface foliaire spécifique.

Il y aurait une influence du patrimoine génétique indubitable sur la masse foliaire spécifique dont les effets seraient beaucoup moindres que ceux dus aux facteurs de l'environnement (Jurik, 1986a). Puisque les facteurs environnementaux et génétiques peuvent avoir des effets sur les caractéristiques anatomiques et physiologiques qui ne sont pas nécessairement traduits par une modification de la photosynthèse, il ne faut pas se surprendre de la variabilité des paramètres PA des spécimens contrôles.

Dans une vision globale de l'écosystème forestier, il convient de rappeler que la végétation est constamment exposée à une multitude d'agents environnementaux naturels (sécheresse, températures extrêmes, épidémies diverses). L'homme ajoute à ces stress, localement, par une mauvaise pratique sylvicole, globalement par la production de polluants. Le potentiel de ces agents peut se voir augmenté par le fait que ceux-ci se présentent rarement seuls. Leur présence, en combinaisons diverses, peut se traduire par une action synergique dont l'effet cumulatif peut excéder largement les effets individuels. Cette complexité rend pratiquement impossible la tâche d'isoler un facteur unique responsable du déclin d'un arbre (McIlveen *et al.*, 1989). Comme souligné par McIlveen *et al.* (1986) suite à leur étude du phénomène de la perte de vigueur des érables à sucre en Amérique du Nord, aucune cause en

Tableau 22

**Coefficient de corrélation des droites de régression reliant
le taux d'échange de CO₂ à la surface foliaire spécifique**

ESPÈCE	COEFFICIENT DE CORRÉLATION r^2	NOMBRE D'ÉCHANTILLONS n
Tilleul d'Amérique	0.93	7
Chêne rouge	0.81	40
Érable rouge	0.73	16
Hêtre à grandes feuilles	0.53	16
Peuplier à grandes dents	0.33	40
Érable à sucre	0.13	16

(D'après Jurik, 1986b)

particulier n'a pu être identifiée. Ces auteurs proposent même qu'il s'agirait d'une réponse non spécifique de l'arbre à une variété d'agents qui agirait seule ou en combinaison. McIlveen *et al.* (1986) indiquent de plus que les causes sont fréquemment reliées et qu'elles peuvent agir en synergie.

L'implication de nombreux facteurs abiotiques et biotiques dans le dépérissement des érablières au Québec ne fait pas vraiment de doute, cependant, il semble difficile de dégager des corrélations entre nombre de ces facteurs et l'incidence du dépérissement (Lachance, 1985). Utilisant une approche écologique afin d'expliquer le dépérissement des érablières, une équipe de chercheurs du ministère de l'Énergie et des Ressources du Québec a conclu: 1- qu'aucune des variables écologiques et anthropiques analysées ne peut, à elle seule, expliquer le dépérissement; 2- plusieurs facteurs contribuent au dépérissement (variations climatiques,

épidémies d'insectes, pratique sylvicole) mais la pollution atmosphérique représente l'agent principal (Carrier, 1986).

Devant cette complexité du dépérissement et la variabilité observée dans les paramètres PA, nous ne croyons pas que la spectroscopie photoacoustique soit adaptée pour l'analyse des stress affectant des plantes supérieures en conditions naturelles.

CHAPITRE VIII

CONCLUSION

Dans l'optique d'une continuité de ce travail sur l'érable à sucre, nous recommandons qu'une série d'expériences soient menées afin de vérifier l'importance de l'intensité lumineuse sur le taux de survie des semis. De plus, il nous semble important d'étudier les effets de la thermopériode sur leur croissance. Enfin, il serait également intéressant de vérifier l'importance des mycorhizes sur le taux de survie des semis. L'addition, au mélange de terre utilisé, de sol provenant d'une érablière devrait avoir un effet bénéfique.

Le recours à une espèce végétale moins exigeante en ce qui concerne les conditions de croissance mérite d'être sérieusement envisagé. Nous avons constaté que, sur ce point, le pois constitue un modèle intéressant. D'une part la production massive de plantules de pois demeure relativement simple (aucune stratification nécessaire, croissance rapide,...). De plus, le pois présente des caractéristiques morphologiques qui en font une plante de choix pour des études en SPA. Nous faisons ici référence aux feuilles pairées, dont l'une sert de contrôle alors que l'autre subit un traitement. Ce système, en permettant la comparaison de feuilles opposées, limite grandement les variations attribuables aux différences génétiques, morphologiques, physiologiques ou environnementales. Nous avons vu que, dans le cas de l'érable à sucre, la variabilité des paramètres PA, attribuable au matériel, pouvait prendre des proportions considérables. Enfin, les dimensions des feuilles de pois permettent de prélever un spécimen vraiment représentatif du comportement de la feuille entière, ce qui n'est malheureusement pas le cas avec la plupart des autres espèces y compris l'érable à sucre.

Nous sommes conscients des limitations que représentent ce choix. Il existe cependant des espèces ligneuses moins exigeantes que l'érable à sucre et possiblement susceptible de fournir plus d'informations sur les mécanismes d'action des polluants gazeux. L'érable argenté, qui ne nécessite pas de période de stratification (Webb & Dumbroff, 1969) et qui démontre une grande sensibilité aux polluants, tels que l'ozone et le bioxyde de soufre, représente une telle espèce. Néanmoins, avant d'entreprendre une telle étude, il s'avère primordial d'évaluer la variabilité naturelle des paramètres PA chez l'espèce choisie. L'ampleur de cette variabilité dictera la poursuite des expériences.

Bien que nous soyons satisfait des performances de la chambre de fumigation, certaines modifications peuvent y être apportées. Par exemple, le système d'éclairage peut être modifié ou remplacé de façon à uniformiser la distribution de la lumière, particulièrement près du plafond de la chambre. Un plus grand contrôle de l'intensité lumineuse nous apparaît également profitable. La quantité de chaleur générée, par les lampes actuellement en place, risque de causer des problèmes lors de fumigations de longue durée (plus de 4 h).

La substitution des deux lampes au sodium par une série de tubes fluorescents devrait permettre: 1- d'uniformiser la distribution de la lumière en couvrant la totalité de la surface du plafond; 2- de permettre un meilleur contrôle de l'intensité lumineuse en modifiant le nombre de tubes en fonction; 3- de réduire la quantité de chaleur produite. Enfin, de tels tubes peuvent également être fixés sur les parois intérieures de la chambre, préféablement dans les coins, et fournir ainsi un éclairage plus uniforme. Le maintien, dans la chambre de fumigation, d'une concentration constante de bioxyde de soufre ne cause pas de problème particulier. Il en est autrement pour l'ozone, particulièrement aux concentrations supérieures à 1000 ppb. La mise en place d'un système d'asservissement, relié à l'analyseur d'ozone, devra être considérée si une grande stabilité de la concentration d'ozone est requise.

La spectroscopie photoacoustique ne nous apparaît pas adaptée pour l'étude de l'effet des polluants gazeux sur l'activité photosynthétique de l'érable à sucre. Ce jugement provient de l'analyse de résultats très variables. Comme cette variabilité s'observe aussi bien chez les plantes contrôles que chez les plantes traitées, elle risque de masquer un effet subtil mais présent du stress étudié. De plus, comme elle s'observe au sein d'une même feuille, entre les feuilles d'une même plante et entre plantes différentes, elle rend la comparaison difficile des spécimens.

Cet inconvénient tient, entre autres, de la complexité de la génération du signal photoacoustique dans la feuille et de l'influence des facteurs environnementaux sur les propriétés morphologiques et physiologiques de celle-ci. Cette influence peut se répercuter sur les propriétés optiques, thermiques et mécaniques de la feuille, tous trois ayant un rôle déterminant dans la génération du signal PA.

En dépit de ces limitations, nous croyons avoir démontré la résistance de l'érable à sucre à l'ozone et au bioxyde de soufre (fumigation à court terme). Les seuils que nous avons déterminés nous semblent surévalués étant donnée la grande variabilité des paramètres PA. Lors de notre étude des effets de l'ozone, sur les sauvageons maintenus dans les chambres d'exclusion pendant une saison, nous avons également démontré que les paramètres PA présentaient une variabilité temporelle importante. L'action combinée des deux sources de variations ne nous a pas permis de déceler d'inhibition significative de l'activité photosynthétique des sauvageons exposés à trois fois la concentration ambiante d'ozone.

Appliqué en concentration élevée, le bioxyde de soufre provoque une inhibition du dégagement d'oxygène et de l'emmagasinement d'énergie photosynthétique. De façon contraire, ce gaz induit une augmentation de ces mêmes paramètres lorsqu'il est présent en faible

concentration. Cette stimulation serait attribuable au mécanisme de détoxification (réduction du SO_2) impliquant le transport photosynthétique d'électrons. L'effet stimulateur ou inhibiteur serait plus important chez les sauvageons que chez les semis.

Il n'est pas possible de conclure au sujet des paramètres PA de feuilles d'arbres matures démontrant des niveaux différents de dépérissement (0, 40 ou 70%). Nous recommandons une approche différente de celle utilisée, où une vingtaine d'arbres (ou tout autre nombre jugé suffisant) appartenant à la même classe de dépérissement seraient échantillonnées. Cette façon de procéder devrait permettre de distinguer entre la contribution du génotype et l'effet réel du dépérissement sur l'activité photosynthétique des feuilles. De plus, l'évaluation de la surface foliaire totale des arbres échantillonnées combinée à notre évaluation de l'activité photosynthétique des disques de feuilles, donnerait une idée plus juste de la capacité photosynthétique réelle de ces arbres.

L'application de la SPA à l'étude du mécanisme d'action de l'ion sulfite nous aura permis de postuler que cet ion agit au niveau du complexe de dégagement d'oxygène. L'effet est dépendant de la concentration et de la présence de lumière. À l'obscurité, l'ion sulfite agit possiblement sur la photophosphorylation et sur le transport cyclique d'électrons autour du PS I. Nos résultats indiquent l'utilité de la SPA dans ce genre d'étude. Associée à d'autres techniques, telle que la spectroscopie de fluorescence, la SPA s'est révélée un outil d'investigation pratique.

Pour ce qui est de l'avenir de la spectroscopie photoacoustique dans le domaine de l'écophysiologie, la complexité du signal dans les feuilles et l'absence de modèle théorique pour l'expliquer adéquatement en limitent les applications. Seuls des progrès techniques considérables, permettant d'analyser des spécimens de la dimension d'une feuille entière et de

réduire ainsi une source importante de variabilité, pourrait assurer une place à la SPA parmi les techniques d'analyse sur le terrain.

L'utilité de la spectroscopie photoacoustique au laboratoire pour l'étude de certains mécanismes nous semble prometteuse. Nos résultats, ainsi que d'autres obtenus dans nos laboratoires, supportent ce point de vue.

Nos résultats ne nous permettent pas d'évaluer avec exactitude le rôle de l'ozone dans le dépérissement des érablières. En dépit des limitations de nos mesures, la résistance de l'érable à sucre, envers ce polluant, lui confère un rôle accessoire. Il ne faut pas perdre de vue que la durée de nos traitements, mais les plus longs, ne rend pas justice sur ce que subit un arbre centenaire.

Tel que souligné par Impens *et al.* (1985), l'étude du dépérissement, de par sa complexité, nécessite une approche interdisciplinaire. Dans cet optique, la spectroscopie photoacoustique possède le potentiel pour fournir certaines informations à la condition d'utiliser le matériel adapté pour le genre de question posée. Selon nous, il ne faut pas espérer être en mesure d'identifier précocement un stress particulier avec cette technique.

RÉFÉRENCES¹

- Aben, J.M.M., Janssen-Jurkovičová, M. & Adema, E.H.** (1990) "Effects of low-level ozone exposure under ambient conditions on photosynthesis and stomatal control of *Vicia faba* L.". *Plant Cell Environ.* **13**, 463-469.
- Adams, M.B., Kelly, J.M. & Edwards, N.T.** (1988) "Growth of *Pinus taeda* L. seedlings varies with family and ozone exposure level". *Water Air Soil Pollut.* **38**, 137-150.
- Adams, W.W. III, Winter, K. & Lanzl, A.** (1989) "Light and the maintenance of photosynthetic competence in leaves of *Populus balsamifera* L. during short-term exposures to high concentrations of sulfur dioxide". *Planta (Berl.)* **177**, 91-97.
- Alberte, R.S., McClure, P.R. & Thornber, J.P.** (1976) "Photosynthesis in trees. Organization of chlorophyll and photosynthetic unit size in isolated gymnosperm chloroplasts". *Plant Physiol. (Bethesda)* **58**, 341-344.
- Alebic-Juretic, A. & Arko-Pijevac, M.** (1989) "Air pollution damage to cell membranes in lichens - results of simple biological test applied in Rijeka, Yugoslavia". *Water Air Soil Pollut.* **45**, 25-33.
- Allen, D.C.** (1987) "Insects, declines and general health of northern hardwoods." Dans *Managing Northern Hardwoods*, (R. Nyland, éd.). Proceedings Silvicultural Symposium, SUNY College of Environmental Science and Forestry, Syracuse, N.Y.. *Faculty of Forestry Miscel. Public. #13 (SAF #87-03)*, 252-285.
- Almqvist, E.** (1974) "Remote sensing of gaseous air pollution". *Ambio* **3**, 168-176.
- Alscher, R.G.** (1989) "Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants". *Physiol. Plant.* **77**, 457-464.
- Alscher, R., Bower, J.L. & Zippel, W.** (1987a) "The basis for different sensitivities of photosynthesis to SO₂ in two cultivars of pea". *J. Exp. Bot.* **38**, 99-108.
- Alscher, R., Franz, M. & Jeske, C.W.** (1987b) "Sulfur dioxide and chloroplast metabolism. Dans *Phytochemical Effects of Environmental Compounds* (A. Saunders, L. Kosak-Channing & E.E. Conn, éd.). Plenum Publishing Corporation, New York, pp. 1-28.
- Altshuller, A.P.** (1989) "Sources and levels of background ozone and its precursors and impact at ground level". Dans *Atmospheric Ozone Research and its Policy Implications* (T. Schneider, S.D. Lee, G.J.R. Wolters & L.D. Grant, éd.). Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam. *Stud. Environ. Sci.* **35**, 127-157.
- Amthor, J.S., Gill D.S. & Bormann, F.H.** (1990) "Autumnal leaf conductance and apparent photosynthesis by saplings and sprouts in a recently disturbed northern hardwood forest". *Oecologia (Berl.)* **84**, 93-98.
- Amundson, R.G., Alscher, R.G., Fellows, S., Rubin, G., Fincher, J., Van Leuken, P. & Weinstein,**

¹ Consultez la note à la fin des références.

- L.H.** (1991) "Seasonal changes in the pigments, carbohydrates and growth of red spruce as affected by exposure to ozone for two growing seasons". *New Phytol.* **118**, 127-137.
- Anderson, L.G., Gates, P.M. & Nold, C.R.** (1989) "Mechanism of atmospheric oxidation of sulfur dioxide by hydroxyl radicals". Dans *Biogenic Sulfur in the Environment* (E.S. Saltzman & W.J. Cooper, éd.). American Chemical Society, Washington DC. *ACS Symp. Ser.* **393**, 437-449.
- Aneja, V.P., Yoder, G.T. & Arya, S.P.** (1992) "Ozone in the urban southeastern United States". *Environ. Pollut.* **75**, 39-44.
- Anlauf, K.G., Lusi, M.A., Wiebe, H.A. & Stevens, R.D.S.** (1975) "High ozone concentrations measured in the vicinity of Toronto, Canada". *Atmos. Environ.* **9**, 1137-1139.
- Anonyme** (1948) "Woody-plant seed manual". *USDA Miscel. Public.* **654**, 416 pages.
- Anonyme** (1983) "Air pollution impacts on agriculture and forestry". *Northeast Region. Res. Publ. Project NE-121*, (C.L. Mulchi, C.R. Curtis, H.E. Heggstad & L.D. Moore, éd.). Maryland Agricultural Experimental Station, College Park, MD, 35 pages.
- Anonyme** (1989) "Changes in the decline status of hardwood forests in Ontario 1986 to 1987". Ontario Ministry of the Environment, 103 pages.
- Anonyme** (1990) "Assessment of sugar maple and yellow birch foliage and soil chemistry at the Ontario hardwood decline survey plots". Ontario Ministry of the Environment, 86 pages.
- Aphalo, P.J. & Jarvis, P.G.** (1991) "Do stomata respond to relative humidity?". *Plant Cell Environ.* **14**, 127-132.
- Arnon, D.I.** (1949) "Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*". *Plant Physiol. (Bethesda)* **24**, 1-15.
- Aro, E.-M., Rintamäki, E., Korhonen, P. & Mäenpää** (1986) "Relationship between chloroplast structure and O₂ evolution rate of leaf discs in plants from different biotopes in South Finland". *Plant Cell Environ.* **9**, 87-94.
- Asada, K.** (1980) "Formation and scavenging of superoxide in chloroplasts, with relation to injury by sulfur dioxide in studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity". *Res. Rep. Nat. Inst. Environ. Stud.* **11**, 165-79.
- Asada, K. & Kiso, K.** (1973) "Initiation of aerobic oxidation of sulfite by illuminated chloroplasts". *Eur. J. Biochem.* **33**, 253-257.
- Ashenden, T.W. & Mansfield, T.A.** (1977) "Influence of windspeed on the sensitivity of ryegrass to SO₂". *J. Exp. Bot.* **28**, 729-735.
- Ashmore, M.R. & Bell, J.N.B.** (1991) "The role of ozone in global change". *Ann. Bot. (Lond.)* **67** (Suppl. 1), 39-48.
- Ashmore, M.R., Bell, J.N.B. & Reily, C.L.** (1980) "The distribution of phytotoxic ozone in the British Isles". *Environ. Pollut. Ser. B Chem. Phys.* **1**, 195-216.
- Ashmore, M., Bell, N. & Rutter, J.** (1985) "The role of ozone in forest damage in West Germany". *Ambio* **14**, 81-87.
- Atkins, C.A. & Canvin, D.T.** (1971) "Photosynthesis and CO₂ evolution by leaf discs: gas exchange,

- extraction, and ion-exchange fractionation of ^{14}C -labeled photosynthetic products". *Can. J. Bot.* **49**, 1225-1234.
- Atkinson, C.J. & Winner, W.E.** (1989) "Modification of stomatal conductance by sulphur dioxide". *J. Exp. Bot.* **40**, 461-467.
- Atkinson, C.J. & Winner, W.E.** (1990) "Interactions of SO_2 with other environmental stresses in influencing leaf gas exchange". *Oecologia (Berl.)* **84**, 500-505.
- Baillon, F., Dalschaert, X. & Grassi, S.** (1987) "Possible use of chlorophyll fluorescence in early detection of forest damages: influence of different criteria". Dans *Proceedings of Symposium: Effects of Air Pollution on Terrestrial and Aquatic Ecosystem*, Grenoble, pp. 590-595.
- Baker, C.K., Unsworth, M.H. & Greenwood, P.** (1982) "Leaf injury on wheat plants exposed in the field in winter to SO_2 ". *Nature (Lond.)* **299**, 149-151.
- Baker, E.A.** (1982) "Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes". Dans *The Plant Cuticle* (D.C. Cutler, K.L. Alvin & C.E. Price, eds.). Academic Press, New York, *Linn. Soc. Symp. Ser.* **10**, 139-165.
- Baker, E.A. & Martin, J.T.** (1967) "Studies on plant cuticle. X. The cuticles of plants of related families". *Ann. Appl. Biol.* **60**, 313-319.
- Baker, E.A., Bukovac, M.J. & Flore, J.A.** (1979) "Ontogenetic variations in the composition of peach leaf wax". *Phytochemistry (Oxf.)* **18**, 781-784.
- Balasubramanian, D. & Rao, C.M.** (1981) "Photoacoustic spectroscopy of biological systems". *Photochem. Photobiol.* **34**, 749-752.
- Balasubramanian, D. & Rao, C.M.** (1986) "Application of photoacoustics to biology: some specific systems and methods". *Can. J. Phys.* **64**, 1132-1135.
- Baldy, C.M. & Le Buhan, J.-P.** (1971) "Répartition de la photosynthèse nette dans les feuilles de tabac". *Photosynthetica (Prague)* **5**, 421-423.
- Barnes, J.D. & Davison, A.W.** (1988) "The influence of ozone on the winter hardiness of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst)". *New Phytol.* **108**, 159-166.
- Barnes, J.D., Velissariou, D., Davison, A.W. & Holevas, C.D.** (1990a) "Comparative ozone sensitivity of old and modern Greek cultivars of spring wheat". *New Phytol.* **116**, 707-714.
- Barnes, J.D., Eamus, D., Davison, A.W., Ro-Poulsen, H. & Mortensen, L.** (1990b) "Persistent effects of ozone on needle water loss and wettability in Norway spruce". *Environ. Pollut.* **63**, 345-363.
- Barnes, R.L.** (1972) "Effects of chronic exposure to ozone on photosynthesis and respiration of pines". *Environ. Pollut.* **3**, 133-138.
- Barrett, T.W. & Benedict, H.M.** (1970) "Sulfur dioxide". Dans *Recognition of Air Pollution Injury to Vegetation: a Pictorial Atlas* (J.S. Jacobson & A.C. Hill, eds.). Air Pollution Control Association, Pittsburg, Pennsylvania, C1-C5.
- Bartoš, J., Kubin, Š. & Šetlik, I.** (1960) "Dry weight increase of leaf discs as a measure of photosynthesis". *Biol. Plant. (Prague)* **2**, 201-215.
- Bauce, E. & Douglas, A.C.** (1992) "Role of *Armillaria calvescens* and *Glylobius speciosus* in a sugar

- maple decline". *Can. J. For. Res.* **22**, 549-552.
- Beadle, N.C.W.** (1966) "Soil phosphate and its role in molding segments of an Australian flora and vegetation, with special reference to xeromorphy and sclerophylly". *Ecology* **47**, 992-1007.
- Beauregard, M.** (1991) "Involvement of sulfite and sulfate anions in the SO₂-induced inhibition of the oxygen evolving enzyme photosystem II in chloroplasts: a review". *Environ. Exp. Bot.* **31**, 11-21.
- Beauregard, M. & Popovic, R.** (1987) "Artificial inhibitory effects of sulfite on photosystem II activity measured by oxygen evolution in chloroplasts". *Photosynth. Res.* **14**, 89-94.
- Becker, M. & Lévy, G.** (1982) "Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais. Les causes écologiques". *Ann. Sci. For. (Paris)* **39**, 439-444.
- Becker, M. & Lévy, G.** (1983) "Le dépérissement du chêne: une leçon d'écologie". *Recherche (Paris)* **143**, 534-536.
- Beckerson, D.W., Hofstra, G. & Wukash, R.** (1979) "The relative sensitivities of 33 bean cultivars to ozone and sulfur dioxide singly or in combination in controlled exposures and to oxidants in the field". *Plant Dis. Rep.* **63**, 478-482.
- Bélanger, R.** (1992) "Conception et évaluation d'un photomètre portatif photoacoustique et de fluorescence". Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Trois-Rivières.
- Bell, A.G.** (1880) "On the production and reproduction of sound by light". *Am. J. Sci.* **20**, 305-324.
- Bennett, J.H. & Hill, A.C.** (1973) "Inhibition of apparent photosynthesis by air pollutants". *J. Environ. Qual.* **2**, 526-530.
- Bennett, J.H., Lee, E.H. & Heggstad, H.E.** (1984) "Biochemical aspects of plant tolerance to ozone and oxyradicals: superoxide dismutase. Dans *Gaseous Air Pollutants and Plant Metabolism* (M.J. Koziol & F.R. Whatley, eds.). Butterworths, London UK, pp. 413-423.
- Benoit, P., Laflamme, G. & Lachance, D.** (1985) "Insectes et maladies des arbres. Québec 1984. Enquêtes spéciales". *Forêt-Conser.* **51**, 22-31.
- Black, V.J.** (1982) "Effects of sulphur dioxide on physiological processes in plants". Dans *Effects of Gaseous Air Pollution in Agriculture and Horticulture* (M.H. Unsworth & D.P. Ormrod, eds.). Butterworth Scientific, London, pp. 67-91.
- Black, V.J. & Unsworth, M.H.** (1979) "Effects of low concentrations of sulphur dioxide on net photosynthesis and dark respiration of *Vicia faba*". *J. Exp. Bot.* **30**, 473-483.
- Black, V.J., Ormrod, D.P. & Unsworth, M.H.** (1982) "Effects of low concentrations of ozone, singly and in combination with sulphur dioxide on net photosynthetic rates of *Vicia faba* L.". *J. Exp. Bot.* **33**, 1302-1311.
- Blank, L.W.** (1985) "A new type of forest decline in Germany". *Nature (Lond.)* **314**, 311-314.
- Blum, U. & Heck, W.W.** (1980) "Effects of acute ozone exposures on snap bean at various stages of its life cycle". *Environ. Exp. Bot.* **20**, 73-85.
- Boardman, N.K.** (1977) "Comparative photosynthesis of sun and shade plants". *Ann. Rev. Plant Physiol.* **28**, 355-377.

- Bolhàr-Nordenkamp, H. & Grünweis, E.** (1987) "Determination of the total chlorophyll distribution pattern in living leaves". *Photosynth. Res.* **12**, 13-23.
- Bonneau, M.** (1986) "Le dépérissement des forêts". *Aménagement Nature* **80**, 18-21.
- Bordeleau, C.** (1986) "Dépérissement des érablières, ampleur des dommages dans les Appalaches". Dans *Journée d'information sur l'acériculture au Québec*. Cahier de conférences. Conseil des producteurs de végétaux du Québec. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, 21-36.
- Bosian, G.** (1968) "Die Bedeutung der Stomata, der Luftfeuchte und der Temperatur für den CO₂ und Wasserdampf-gaswechsel der Pflanzen". (The significance of stomata and temperature for the carbon dioxide and water vapour exchange in plants). *Photosynhtetica (Prague)* **2**, 105-125.
- Bouton, J.H., Brown, R.H., Evans, P.T. & Jernstedt, J.A.** (1986) "Photosynthesis, leaf anatomy, and morphology of progeny from hybrids between C₃ and C₃/C₄ *Panicum* species". *Plant Physiol. (Bethesda)* **80**, 487-492.
- Bouvarel, P.** (1984) "Le dépérissement des forêts attribué à la pollution atmosphérique". *Courr. Nat.* **94**: 30-35.
- Braslavsky, S.E.** (1986) "Photoacoustic and photothermal methods applied to the study of radiationless deactivation processes in biological systems and in substances of biological interest". *Photochem. Photobiol.* **43**, 667-675.
- Braslavsky, S.E.** (1989) "Time resolved photoacoustics in biology". *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **93**, 356-358.
- Brown, K.A., Roberts, T.M. & Blank, L.W.** (1987) "Interaction between ozone and cold sensitivity in Norway spruce: a factor contributing to the forest decline in Central Europe?". *New Phytol.* **105**, 149-155.
- Bruinsma, J.** (1961) "A comment on the spectrophotometric determination of chlorophyll". *Biochim. Biophys. Acta* **52**, 576-578.
- Bruinsma, J.** (1963) "The quantitative analysis of chlorophylls *a* and *b* in plant extracts". *Photochem. Photobiol.* **2**, 241-249.
- Bults, G., Horwitz, B.A., Malkin, S. & Cahen, D.** (1981a) "Frequency dependent photoacoustic signals from leaves and their relation to photosynthesis". *FEBS Lett.* **129**, 44-46.
- Bults, G., Horwitz, B.A., Malkin, S. & Cahen, D.** (1981b) "Leaf physiology and anatomy by photoacoustics". Dans *2nd Topical Meeting on Photoacoustic Spectroscopy, Technical Digest*, Berkeley, CA, ThB28-1-ThB28-4.
- Bults, G., Nordal, P.-E. & Kanstad, S.O.** (1982a) "In vivo studies of gross photosynthesis in attached leaves by means of photothermal radiometry". *Biochim. Biophys. Acta* **682**, 234-237.
- Bults, G., Horwitz, B.A., Malkin, S. & Cahen, D.** (1982b) "Photoacoustic measurements of photosynthetic activities in whole leaves: photochemistry and gas exchange". *Biochim. Biophys. Acta* **679**, 452-465.
- Buscalioni, L. & Pollacci, G.** (1901) "L'applicazione delle pellicole di collodio allo studio di alcuni processi fisiologici delle piante ad in particolar modo della traspirazione". *Atti Ist. Bot. Univ. Pavia* **2**, 83-95.

- Buschmann, C. (1986) "Fluoreszenz- und wärmeabstrahlung bei Pflanzen. Anwendung in der photosyntheseforschung". *Naturwissenschaften* **73**, 691-699.
- Buschmann, C. (1987) "Induction kinetics of heat emission before and after photoinhibition in cotyledons of *Raphanus sativus*". *Photosynth. Res.* **14**, 229-240.
- Buschmann, C. (1989) "Photoacoustic measurements: application in plant science". *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **323**, 423-434.
- Buschmann, C. & Prehn, H. (1986) "Photosynthetic parameters measured via non-radiative de-excitation". Dans *Biological Control of Photosynthesis*, (R. Marcelle, H. Clijsters & M. Van Poucke, eds.). Martinus Nijhoff, Dordrecht, the Netherlands, pp. 83-91.
- Buschmann, C. & Prehn, H. (1988) "Inverse yield of heat and fluorescence during photoinhibition of photosynthesis". Dans *Photoacoustic and Photothermal Phenomena* (P. Hess & J. Pelz, eds.). Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, Germany. *Springer Verlag Series in Optical Sciences* Vol. **58**, 523-526
- Buschmann, C. & Prehn, H. (1990) "Photoacoustic spectroscopy - photoacoustic and photothermal effects". Dans *Modern Methods of Plant Analysis New Series* (H.F. Linskens & J.F. Jacks, eds.). Vol. **11**, *Physical Methods in Plant Sciences*, 148-180.
- Buschmann, C., Prehn, H. & Lichtenthaler, H. (1984) Photoacoustic spectroscopy (PAS) and its application in photosynthesis research". *Photosynth. Res.* **5**, 29-46.
- Cahen, D., Malkin, S. & Lerner, E.I. (1978) "Photoacoustic spectroscopy of chloroplast membranes; listening to photosynthesis". *FEBS Lett.* **91**, 339-342.
- Cahen, D., Bults, G., Garty, H. & Malkin, S. (1980) "Photoacoustics in life sciences". *J. Biochem. Biophys. Methods* **3**, 293-310.
- Caldwell, C.R. (1993) "Estimation and analysis of cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaf cellular heat sensitivity". *Plant Physiol. (Bethesda)* **101**, 939-945.
- Canaani, O. (1985) "The effect of chloroplast pH on the distribution of excitation energy between photosystem I and II suggests the involvement of two kinases in state 1-state 2 transitions". *FEBS Lett.* **188**, 281-285.
- Canaani, O. (1986) "Photoacoustic detection of oxygen evolution and State 1-State 2 transitions in cyanobacteria". *Biochim. Biophys. Acta* **852**, 74-80.
- Canaani, O. (1987) "Control of state 1 - state 2 transitions in the blue-green alga *Nostoc muscorum*." Dans *Progress in Photosynthesis Research*, (J. Biggens, éd.). Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands, Vol. **II**, 14.769-14.772.
- Cannani, O. & Malkin, S. (1984a) "Distribution of light excitation in an intact leaf between the two photosystems of photosynthesis. Changes in absorption cross-sections following state 1-state 2 transitions". *Biochim. Biophys. Acta* **766**, 513-524.
- Canaani, O. & Malkin, S. (1984b) "Physiological adaptation to a newly observed low light intensity state in intact leaves, resulting in extreme imbalance in excitation energy distribution between the two photosystems". *Biochim. Biophys. Acta* **766**, 525-532.
- Canaani, O., Cahen, D. & Malkin, S. (1982) "Use of photoacoustic methods in probing development of the photosynthetic apparatus in greening leaves". Dans *Cell Function and Differentiation, Part*

- B, Biogenesis of Energy Transducing Membranes and Membrane and Protein Energetics* (G. Akoyunoglou, A.E. Evangelopoulos, J. Georgatsos, G. Palaiologos, A. Trakatellis & C.P. Tsiganos, éds.). Alan R. Liss, Inc., New York, *Progress in Clinical and Biological Research* Vol. 102B, 299-308.
- Canaani, O., Barber, J. & Malkin, S.** (1984a) "Evidence that phosphorylation and dephosphorylation regulate the distribution of excitation energy between the two photosystems of photosynthesis *in vivo*: photoacoustic and fluorimetric study of an intact leaf". *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **81**, 1614-1618.
- Canaani, O., Cahen, D. & Malkin, S.** (1984b) "Photoacoustics as a probe for photosynthetic O₂ evolution and energy storage in an intact leaf - distribution of excitation energy between PSII and PSI". Dans *Advances in Photosynthesis Research* (C. Sybesma, éd.). Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, The Hague, Vol. III, 4.331-4.334.
- Canaani, O., Havaux, M., Cahen, D., Malkin, S., Yakir, D. & Bravdo, B.-A.** (1985) "Characterization of photoacoustic parameters which are used as indicators for stress conditions". Dans *4th International Topical Meeting on Photoacoustic, Photothermal and Related Science*. Ville D'Estérel, Québec. ThA11.1-ThA11.4.
- Canaani, O., Havaux, M. & Malkin, S.** (1986) "Hydroxylamine, hydrazine and methylamine donate electrons to the photooxidizing side of photosystem II in leaves inhibited in oxygen evolution due to water stress". *Biochim. Biophys. Acta* **851**, 151-155.
- Canaani, O., Schuster, G. & Ohad, I.** (1989) "Photoinhibition in *Chlamydomonas reinhardtii*: effect on state transition, intersystem energy distribution and photosystem I cyclic electron flow". *Photosynth. Res.* **20**, 129-146.
- Canadian Forestry Service** (1980) "Survey bulletin. Forest insect and disease conditions in Ontario, summer 1980". Great Lakes Forest Research Centre, Sault Ste. Marie, Ontario, 9 pages.
- Carl, C.M. Jr. & Yawney, H.W.** (1966) "Four stratification media equally effective in conditioning sugar maple seed for germination". *Tree Plant. Notes* **77**, 24-28.
- Carl, C.M. Jr. & Yawney, H.W.** (1969) "The use of pentane to separate filled and empty sugar maple samaras". *Tree Plant. Notes* **20**, 24-27.
- Carlson, J.D., Costello, M.E. & Seliga, T.A.** (1987) "Major sulfur dioxide point-source emissions inventories for Eastern United States and Southeastern Canada". *J. Air Pollut. Control Assoc.* **37**, 49-51.
- Carlson, R.W.** (1979) "Reduction in the photosynthetic rate of *Acer*, *Quercus* and *Fraxinus* species caused by sulphur dioxide and ozone". *Environ. Pollut.* **18**, 159-170.
- Carlson, R.W.** (1983) "The effect of SO₂ on photosynthesis and leaf resistance at varying concentrations of CO₂". *Environ. Pollut. Ser. A Ecol. Biol.* **30**, 309-321.
- Carlson, R.W. & Bazzaz, F.A.** (1985) "Plant responses to SO₂ and CO₂". Dans *Sulphur Dioxide and Vegetation* (W.E. Winner, H.A. Mooney & R.A. Goldstein, éds.). Stanford University Press, CA, pp. 313-331.
- Carpentier, R., Nakatani, H.Y. & Leblanc, R.M.** (1985) "Photoacoustic detection of energy conversion in a photosystem II submembrane preparation from spinach". *Biochim. Biophys. Acta* **808**, 470-473.

- Carpentier, R., Leblanc, R.M. & Mimeault, M. (1987) "Photoinhibition and chlorophyll photobleaching in immobilized thylakoid membranes". *Enzyme Microb. Technol.* **9**, 489-493.
- Carpentier, R., Leblanc, R.M. & Mimeault, M. (1988) "Monitoring electron transfer by photoacoustic spectroscopy in native and immobilized thylakoid membranes". *Biotechnol. Bioeng.* **32**, 64-67.
- Carpentier, R., Leblanc, R.M. & Mimeault, M. (1989) "Photoacoustic detection of photosynthetic energy storage in photosystem II submembrane fractions". *Biochim. Biophys. Acta* **975**, 370-376.
- Carpentier, R., Leblanc, R. & Mimeault, M. (1990) "On the nature of the photosynthetic energy storage monitored by photoacoustic spectroscopy". *Photosynth. Res.* **23**, 313-318.
- Carpentier, R., Owens, T.G. & Leblanc, R.M. (1991) "Simultaneous saturation of variable fluorescence yield and photoacoustically monitored thermal emission in thylakoid membranes". *Photochem. Photobiol.* **53**, 565-569.
- Carrier, L. (1986) "Le point sur le dépérissement des forêts au Québec". Rapport technique, Service de la Recherche Appliquée, Direction de la Recherche et du Développement, Ministère de l'Énergie et des Ressources, Québec, 29 pages
- Cerović, Z.G., Kalezić, R. & Plesničar, M. (1982) "The role of photophosphorylation in SO₂ and SO₃²⁻ inhibition of photosynthesis in isolated chloroplasts". *Planta (Berl.)* **156**, 249-254.
- Cesar, C.L., Vargas, H., Meyer, J.A. & Miranda, L.C.M. (1979) "Photoacoustic effect in solids". *Phys. Rev. Lett.* **42**, 1570-1573.
- Chabot, B.F. & Chabot, J.F. (1977) "Effects of light and temperature on leaf anatomy and photosynthesis in *Fragaria vesca*". *Oecologia (Berl.)* **26**, 363-377.
- Chameides, W.L. (1989) "The chemistry of ozone deposition to plant leaves: role of ascorbic acid". *Environ. Sci. Technol.* **23**, 595-600.
- Champigny, M.-L. & Moyse, A. (1983) "Les différents types métaboliques végétaux et l'assimilation de CO₂, leur diversité botanique". *Bull. Soc. Bot. Fr. Actual. Bot.* **130**, 71-83.
- Chandler, R.F. Jr. (1938) "The influence of nitrogenous fertilizer applications upon seed production of certain deciduous forest trees". *J. For.* **36**, 761-766.
- Chappelka, A.H. III & Chevone, B.I. (1986) "White ash seedlings growth response to ozone and simulated acid rain". *Can. J. For. Res.* **16**, 786-790.
- Chappelka, A.H. III, Chevone, B.I. & Seiler, J.R. (1988) "Growth and physiological responses of yellow-poplar seedlings to ozone and simulated acid rain". *Environ. Pollut.* **49**, 1-18.
- Charland, M. (1989) "Mesure de l'activité photosynthétique chez les plantes supérieures par la spectroscopie photoacoustique". Mémoire de Maîtrise, Université du Québec à Trois-Rivières, 111 pages.
- Charland, M. (1993) "Mesure de l'activité des photosystèmes I et II *in vivo* en spectroscopie photoacoustique: effets des variations de l'environnement lumineux sur l'activité photosynthétique". Thèse de Doctorat, Université du Québec à Trois-Rivières.
- Charland, M., Veeranjanyulu, K., Charlebois, D. & Leblanc, R.M. (1991) "In vivo state transitions as followed by photoacoustically-measured energy storage". Dans 7th International Topical Meeting of Photoacoustic and Photothermal Phenomena Conference Digest and Technical

- Abstracts*, Doorwerth, The Netherlands, 318-319.
- Charland, M., Veeranjanylu, K., Charlebois, D. & Leblanc, R.M. (1992) "Photoacoustic signal generation in leaves: are O₂-consuming processes involved?". *Biochim. Biophys. Acta* **1098**, 261-265.
- Chauhan, A. (1990) "Early diagnosis of SO₂-stress by volatile emissions in some crop plants". *Oecologia (Berl.)* **84**, 289-294.
- Chia, L.S., Mayfield, C.I. & Thompson, J.E. (1984) "Simulated acid rain induces lipid peroxidation and membrane damage in foliage". *Plant Cell Environ.* **7**, 333-338.
- Chow, C.K. (1988) *Cellular Antioxidant Defense Mechanisms*. CRC Press, Boca Raton, FL, Vol. 1, 222 pages.
- Chow, W.S., Hope, A.B. & Anderson, J.M. (1989) "Oxygen per flash from leaf disks quantifies photosystem II". *Biochim. Biophys. Acta* **973**, 105-108.
- Chow, W.S., Hope, A.B. & Anderson, J.M. (1991) "Further studies on quantifying photosystem II *in vivo* by flash-induced oxygen yield from leaf discs". *Aust. J. Plant Physiol.* **18**, 397-410.
- Clapperton, M.J., Reid, D.M. & Parkinson, D. (1990) "Effects of sulphur dioxide fumigation on *Phleum pratense* and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi". *New Phytol.* **115**, 465-469.
- Clark, J. (1961) "Birch dieback". *Recent Adv. Bot.* **1**, 551-555.
- Clarke, K. & Murray, F. (1990) "Stimulatory effects of SO₂ on growth of *Eucalyptus rudis* Endl.". *New Phytol.* **115**, 633-637.
- Colman, B. & Espie, G.S. (1985) "CO₂ uptake and transport in leaf mesophyll cells". *Plant Cell Environ.* **8**, 449-457.
- Conrad, C.M. & Neely, J.W. (1943) "Heritable relation of wax content and green pigmentation of lint of upland cotton". *J. Agric. Res. (Wash. D C)* **66**, 307-312.
- Coufal, H. (1986) "Photothermal spectroscopy. Applications in surface sciences and in chemical analysis". *Fresenius Z. Anal. Chem.* **324**, 456-462.
- Covello, P.S., Chang, A., Dumbroff, E.B. & Thompson, J.E. (1989) "Inhibition of photosystem II precedes thylakoid membrane lipid peroxidation in bisulfite-treated leaves of *Phaseolus vulgaris*". *Plant Physiol. (Bethesda)* **90**, 1492-1497.
- Cowling, D.W. & Lockyer, D.R. (1976) "Growth of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) exposed to a low concentration of sulphur dioxide". *J. Exp. Bot.* **27**, 411-417.
- Cowling, E.B. (1978) "Effects of acid precipitation and atmospheric deposition on terrestrial vegetation". Dans *A National Program for Assessing the Problem of Atmospheric Deposition (Acid Rain)* (J. N. Galloway, E.B. Cowling, E. Gorham & W.W. McFee, éds.). A report of the Council on Environment Quality, pp. 47-63.
- Cowling, E.B. & Linthurst, R.A. (1981) "The acid precipitation phenomenon and its ecological consequences". *BioScience* **31**, 649-654.
- Coyne, P.I. & Bingham, G.E. (1982) "Variation in photosynthesis and stomatal conductance in an ozone-stressed ponderosa pine stand: light response". *For. Sci.* **28**, 257-273.

- Coyne, P.I. & van Cleve, K. (1977) "Fertilizer induced morphological and chemical responses of a quaking aspen stand in interior Alaska". *For. Sci.* **23**, 92-102.
- D'Aoust, A.L. & Hubac, C. (1986) "Effet de l'état du phytochrome sur l'efflux de solutés des disques de limbes foliaires de cotonnier". *Can. J. Bot.* **64**, 2973-2975.
- Danielsen, E.F. (1968) "Stratospheric-tropospheric exchange based on radioactivity, ozone and potential vorticity". *J. Atmos. Sci.* **25**, 502-518.
- Danielsen, E.F. & Mohnen, V.A. (1977) "Project Dustrom report: ozone transport, *in situ* measurements, and meteorological analyses of tropopause folding". *J. Geophys. Res.* **82**, 5867-5877.
- Darrall, N.M. (1986) "The sensitivity of net photosynthesis in several plant species to short term fumigation with sulphur dioxide". *J. Exp. Bot.* **37**, 1313-1322.
- Darrall, N.M. (1989) "The effect of air pollutants on physiological processes in plants". *Plant Cell Environ.* **12**, 1-30.
- Darrall, N.M. (1991) "Changes in net photosynthesis, transpiration and dark respiration in winter barley exposed to elevated levels of sulphur dioxide using an open-air fumigation system". *Agric. Ecosys. Environ.* **33**, 309-324.
- Dau, H. & Hansen, U.-P. (1989) "Studies on the adaptation of intact leaves to changing light intensities by a kinetic analysis of chlorophyll fluorescence and oxygen evolution as measured by the photoacoustic signal". *Photosynth. Res.* **20**, 59-83.
- Davidson, J.-G. & Paradis, C. (1978) "Le pourridié-agaric (*Armillaria mellea*)". *Minist. Terres For. Québec, Serv. Entomol. Pathol.* **TF1-3295-3-2**, 5 pages.
- Davies, T. (1980) "Grasses more sensitive to SO₂ pollution in conditions of low irradiance and short days". *Nature (Lond.)* **284**, 483-485.
- Davies, W.J. & Kozlowski, T.T. (1974) "Stomatal responses of five woody angiosperms to light intensity and humidity". *Can. J. Bot.* **52**, 1525-1534.
- Davies, W.J. & Kozlowski, T.T. (1975) "Stomatal responses to changes in light intensity as influenced by plant water stress". *For. Sci.* **21**, 129-133.
- Davies, W.J., Kozlowski, T.T. & Pereira, J. (1974) "Effects of wind on transpiration and stomatal aperture of woody plants". Dans *Mechanisms of Regulation of Plant Growth* (R.L. Bielecki, A.R. Ferguson & M.M. Cresswell, eds.). *The Royal Society of New England, Wellington, New England, Bull.* **12**, 433-438.
- Davis, D.D. & Coppolino, J.B. (1974) "Relative ozone susceptibility of selected woody ornamentals". *Hortscience* **9**, 537-539.
- Day, T.A., DeLucia, E.H. & Smith, W.K. (1990) "Dorsiventrality of the photosynthetic response in naturally occurring C₃ dicots". *Proc. VIIIth Int. Cong. Photos.* **IV**, 883-886.
- DeLucia, E.H., Sheno, H.D., Naidu, S.L. & Day, T.A. (1991) "Photosynthetic symmetry of sun and shade leaves of different orientations". *Oecologia (Berl.)* **87**, 51-57.
- De Paula, M.H., Carvalho, M.A., Alves, L.M. & Aegerter, M.A. (1987) "An open-ended photothermal cell for *in vivo* measurements". *J. Appl. Phys.* **61**, 2617-2620.

- De Soete, G.G. (1989) "Cinétique de la formation de polluants gazeux dus à la combustion. Un exemple type: l'oxyde et le protoxyde d'azote". *Pollut. Atmos.* **122**, 176-183.
- Dessureault, M. (1983) "Le dépérissement de l'érable à sucre dans les érablières". Conférence présentée lors de l'assemblée d'information sur le dépérissement dans les érablières, St-George Ouest, Québec
- Dienstbier, M., Il'ina, M.D., Borisov, A.Y., Ambrož, M. & Vacek, K. (1984) "Radiative and non-radiative losses of radiant energy in chloroplasts and pigment-protein complexes studied by fluorescence and photoacoustic techniques". *Photosynthetica (Prague)* **18**, 512-521.
- Dignon, J. & Hameed, S. (1985) "A model investigation of the impact of increases in anthropogenic NO_x emissions between 1967 and 1980 on tropospheric ozone". *J. Atmos. Chem.* **3**, 491-506.
- Dijak, M. & Ormrod, D.P. (1982) "Some physiological and anatomical characteristics associated with differential ozone sensitivity among pea cultivars". *Environ. Exp. Bot.* **22**, 395-402.
- Disanzo, C.P. & Rohde, R.A. (1969) "*Xiphinema americanum* associated with maple decline in Massachusetts". *Phytopathology* **59**, 279-284.
- Dodge, D. & Gilham, J. (1986) "Methods for assessing the action of light activated herbicides. (i). The assessment of lipid peroxidation". *Adv. Appl. Biol.* **11**, 97-103.
- Dominy, P.J. & Heath, R.L. (1985) "Inhibition of the K⁺ stimulated ATPase of the plasmalemma of pinto bean leaves by ozone". *Plant Physiol. (Bethesda)* **77**, 43-45.
- Dornhoff, G.M. & Shibles, R.M. (1970) "Varietal differences in net photosynthesis of soybean leaves". *Crop Sci.* **10**, 42-45.
- Doughtry, A.C. & Biehl, M.D. (1985) "Optical properties of leaves after various treatments including transpiration". *FEBS Lett.* **188**, 281-285.
- Ducharme, D., Tessier, A. & Leblanc, R.M. (1979) "Design and characteristics of a cell for photoacoustic spectroscopy of condensed matter". *Rev. Sci. Instrum.* **50**, 1461-1462.
- Dugger, W.M., Taylor, O.C., Thompson, C.R. & Cardiff, E. (1963) "The effect of light on predisposing plants to ozone and PAN damage". *J. Air Pollut. Control Assoc.* **13**, 423-428.
- Dumas, R., Joyard, J. & Douce, R. (1989) "Effect of sulphate on glutamate synthesis by intact spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts". *Biochem. J.* **259**, 769-774.
- Durant, P., Gelpe, J., Lemoine, B., Riou, J. & Timbal, J. (1983) "Le dépérissement du chêne pédonculé dans les Pyrénées-Atlantiques". *Rev. For. Fr. (Nancy)* **35**, 357-368.
- Dziri, L. (1993) "Application de la spectroscopie photoacoustique et de fluorescence à l'étude des effets de l'ozone sur la photosynthèse de l'érable à sucre". Mémoire de Maîtrise, Université du Québec à Trois-Rivières, 196 pages.
- Edwards, N. (1991) "Root and soil respiration responses to ozone in *Pinus taeda* L. seedlings". *New Phytol.* **118**, 315-321.
- Eglinton, G & Hamilton, R.J (1967) "Leaf epicuticular waxes". *Science (Wash. D. C.)* **156**, 1322-1335.
- Ehleringer, J. & Forseth, I. (1980) "Solar tracking by plants". *Science (Wash. D. C.)* **210**, 1094-1098.

- Eissenstat, D.M., Syvertsen, J.P., Dean, T.J., Yelenosky, G. & Johnson, J.D. (1991) "Sensitivity of frost resistance and growth in citrus and avocado to chronic ozone exposure". *New Phytol.* **118**, 139-146.
- El-Shintinawy, F. & Govindjee (1990) "Bicarbonate effects in leaf discs from spinach". *Photosynth. Res.* **24**, 189-200.
- Eller, B.M. (1977) "Leaf pubescence: the significance of lower surface hairs for the spectral properties of the upper surface". *J. Exp. Bot.* **28**, 1054-1059.
- Elstner, E., Wagner, G. & Schutz, W. (1988) "Activated oxygen in green plants in relation to stress situation". *Curr. Top. Plant Biochem. Physiol.* **7**, 159-187.
- Engle, R.L. & Gabelman, W.H. (1966) "Inheritance and mechanism of resistance to ozone damage to onion, *Allium cepa* L.". *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* **89**, 423-430.
- Enu-Kwesi, L. & Dumbroff, E.B. (1980) "Changes in phenolic inhibitors in seeds of *Acer saccharum* during stratification". *J. Exp. Bot.* **31**, 425-436.
- E.P.A. (1989) "Air quality measurements 1987 and 1988 Perth, Kwinana, Kalgoorlie and Port Hedland". Technical Series No. 29. Environmental Protection Authority, Perth, Western Australia.
- Erdmann, G.G., Metzger, F.T. & Oberg, R.R. (1979) "Macronutrient deficiency symptoms in seedlings of four northern hardwoods". *USDA Forest Serv., Gen. Tech. Rep. NC-53*, NC. Forest Experimental Station, St. Paul, MN, 36 pages.
- Evans, L.S. (1973) "Bean leaf growth response to moderate O₃ levels". *Environ. Pollut.* **4**, 17-26.
- Evans, L.S. & Miller, P.R. (1972) "Ozone damage to Ponderosa pine: a histological and histochemical appraisal". *Am. J. Bot.* **59**, 297-304.
- Evans, L.S. & Ting, I.P. (1973) "Ozone-induced membrane permeability changes". *Am. J. Bot.* **60**, 155-162.
- Evans, L.S. & Ting, I.P. (1974) "O₃ sensitivity of leaves: relationship to leaf water content, gas transfer resistance, and anatomical characteristics". *Am. J. Bot.* **61**, 592-597.
- Eyletters, M & Lannoye, R. (1991) "Photoacoustically monitored energy dissipation and xanthophyll cycle compared in two durum wheat varieties exposed to a high-light treatment". Dans 7th *International Topical Meeting on Photoacoustic and Photothermal Phenomena, Conference Digest and Technical Abstracts*, Doorwerth, the Netherlands, 302-303
- Fabian, P. (1973) "A theoretical investigation of tropospheric ozone and stratospheric-tropospheric exchange processes". *Pure Appl. Geophys.* **106-108**, 1027.
- Fabian, P. & Pruchniewicz, P.G. (1973) "Meridional distribution of tropospheric ozone from ground-based registrations between Norway and South-Africa". *Pure Appl. Geophys.* **106-108**, 1027-1035.
- Fangmeier, A., Kress, L.W., Lepper, P. & Heck, W.W. (1990) "Ozone effects on the fatty acid composition of loblolly pine needles (*Pinus taeda* L.)". *New Phytol.* **115**, 639-647.
- Farage, P.K., Long, S.P., Lechner, E.G. & Baker, N.R. (1991) "The sequence of change within the photosynthetic apparatus of wheat following short-term exposure to ozone". *Plant Physiol. (Bethesda)* **95**, 529-535.

- Feder, W.A. & Shrier, R. (1990) "Combination of U.V.-B and ozone reduces pollen tube growth more than either stress alone". *Environ. Exp. Bot.* **30**, 451-454.
- Fernelius, N.C. (1980) "Extension of the Rosencwaig-Gersho photoacoustic spectroscopy theory to include effects of a sample coating". *J. Appl. Phys.* **51**, 650-654.
- Fincher, J., Cumming, J.R., Alscher, R.G., Rubin, G. & Weinstein, L. (1989) "Long-term ozone exposure affects winter hardiness of red spruce seedlings". *New Phytol.* **113**, 85-96.
- Findlay, S. & Jones, C.G. (1990) "Exposure of cottonwood plants to ozone alters subsequent leaf decomposition". *Oecologia (Berl.)* **82**, 248-250.
- Fladung, M. & Hesselbach, J. (1987) "Developmental studies on photosynthetic parameters in C₃, C₃-C₄ and C₄ plants of *Panicum*". *J. Plant Physiol.* **130**, 461-470.
- Fladung, M. & Hesselbach, J. (1989) "Effect of varying environments on photosynthetic parameters of C₃, C₃-C₄ and C₄ species of *Panicum*". *Oecologia (Berl.)* **79**, 168-173.
- Fork, D.C. & Herbert, S.K. (1993) "The application of photoacoustic techniques to studies of photosynthesis". *Photochem. Photobiol.* **57**, 207-220.
- Fork, D.C., Herbert, S.K. & Malkin, S. (1991) "Light energy distribution in the brown alga *Macrocystis pyrifera* (giant kelp)". *Plant Physiol. (Bethesda)* **95**, 731-739.
- Friedland, A.J., Gregory, R.A., Karenlampi, L. & Johnson, A.H. (1984) "Winter damage to foliage as a factor in red spruce decline". *Can. J. For. Res.* **14**, 963-965.
- Fuhrer, J., Lehnherr, B., Moeri, P.B., Tschannen, W. & Shariat-Madari, H. (1990) "Effects of ozone on the grain composition of spring wheat grown in open-top field chambers". *Environ. Pollut.* **65**, 181-192.
- Fulford, G.B. & Murray, F. (1990) "Morphogenic changes in *Eucalyptus gomphocephala* exposed to SO₂". *Environ. Exp. Bot.* **30**, 343-347.
- Furukawa, A.A., Koike, A., Hozumi, K. & Totsuka, T. (1979) "The effect of SO₂ on photosynthesis in poplar leaves at different CO₂ concentrations". *J. JPN For. Soc.* **61**, 351-356.
- Furuya, M. (1993) "Phytochromes: their molecular species, gene families, and functions". *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **44**, 617-645.
- Gagnon, G., Roy, G., Gravel, C. & Gagné, J. (1986) "État des recherches sur le dépérissement au Ministère de l'Énergie et des Ressources". Dans *Journée d'information sur l'acériculture au Québec*. Cahier de conférences. Conseil des producteurs de végétaux du Québec. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, 47-85.
- Gentile, A.G., Feder, W.A., Young, R.E. & Santner, Z. (1971) "Susceptibility of *Lycopersicon* spp. to ozone injury". *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* **96**, 94-96.
- Ghisi, R., Dittrich, A.P.M. & Heber, U. (1990) "Oxidation versus reductive detoxification of SO₂ by chloroplasts". *Plant Physiol. (Bethesda)* **92**, 846-849.
- Givnish, T.J. (1978) "Ecological aspects of plant morphology: leaf form in relation to environment". Dans *Theoretical Plant Morphology* (R. Sattler, éd.). Linden University Press, The Hague, *Acta Biotheor.* **27**, 83-142.

- Givnish, T.J. & Vermeij, G.J. (1976) "Sizes and shapes of liana leaves". *Am. Nat.* **110**, 743-776.
- Glaser, R.B., Solberg, R.A. & Scott, F.M. (1962) "A developmental study of the leaves of *Nicotiana glutinosa* as related to their smog sensitivity". *Am. J. Bot.* **49**, 954-970.
- Gloser, J. (1967) "Some problems of the determination of stomatal aperture by the microrelief method". *Biol. Plant. (Prague)* **9**, 28-33.
- Godman, R.M., Yawney, H.W. & Tubbs, C.H. (1992) "*Acer saccharum* Marsh. Sugar maple". Dans *Silvics of North America* (R.M. Burns & B.H. Honkala, tech. coords.). U.S. Forest Serv., Agric. Handbook **654**, 1-14.
- Goldsworthy, A. (1966) "Experiments on the origin of CO₂ released by tobacco leaf segments in the light". *Phytochemistry (Oxf.)* **5**, 1013-1019.
- Gouvernement du Québec (1987) "Sommaires mensuels, 1987". Surveillance de la Qualité de l'atmosphère, Ministère de l'Environnement, Direction des réseaux atmosphériques.
- Gouvernement du Québec (1988) "Sommaires mensuels, 1988". Surveillance de la Qualité de l'atmosphère, Ministère de l'Environnement, Direction des réseaux atmosphériques.
- Griffin, H.D. (1965) "Maple dieback in Ontario". *For. Chron.* **41**, 295-300.
- Grimes, H.D., Perkins, K.K., & Boss, W.F. (1983) "Ozone degrades into hydroxyl radical under physiological conditions. A spin trapping study". *Plant Physiol. (Bethesda)* **72**, 1016-1020.
- Groene, D. (1985) "En Franche-Comté: où en est le dépérissement des arbres forestiers?". *Forêts de France* **287**, 18-20.
- Gross, H.L. (1991) "Dieback and growth loss of sugar maple associated with defoliation by the forest tent caterpillar". *For. Chron.* **67**, 33-42.
- Guderian, R. (1977) *Air Pollution. Phytotoxicity of Acidic Gases and its Significance in Air Pollution Control*. Springer-Verlag, Berlin, *Ecological Studies* **22**, 365 pages.
- Guderian, R., Tingey, D.T. & Rabe, R. (1985) "Effects of photochemical oxidants on plants". Dans *Air Pollution by Photochemical Oxidants* (R. Guderian, éd.). Springer-Verlag, Berlin, pp. 129-296.
- Guillaumin, J.-J., Bernard, C., Delatour, C. & Belgrand, M. (1983) "Le dépérissement du chêne à Tronçais. Pathologie racinaire". *Rev. For. Fr. (Nancy)* **35**, 415-424.
- Guri, A. (1983) "Variation in glutathione and ascorbic acid content among selected cultivars of *Phaseolus vulgaris* prior to and after exposure to ozone". *Can. J. Plant. Sci.* **63**, 733-737.
- Hales, J.M. & Sutter, S.L. (1973) "Solubility of sulfur dioxide in water at low concentrations". *Atmos. Environ.* **7**, 997-1001.
- Hall, A.E., Schulze, E.-D. & Lange, O.L. (1976) "Current perspectives of steady-state stomatal responses to environment". Dans *Ecological Studies. Analysis and Synthesis* (O.L. Lange, L. Kappen & E.-D. Schulze, eds.). Vol. **19 Water and Plant Life**, 169-188.
- Hall, D.O. & Telfer, A. (1969) "The effect of sulfate and sulfite on photophosphorylation by spinach chloroplasts". *Progr. Photosynth. Res.* **3**, 1281-1287.

- Hällgren, J.-E. & Gezelius, K. (1982) "Effects of SO₂ on photosynthesis and ribulose biphosphate carboxylase in pine tree seedlings". *Physiol. Plant.* **54**, 153-161.
- Halliwell, B. (1982) "Ascorbic acid and the illuminated chloroplasts". Dans *Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses* (P.A. Seib & B.M. Tolbert, éds.). American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 263-274.
- Hargreaves, K.J., Fowler, D., Storeton-West, R.L. & Duyzer, J.H. (1992) "The exchange of nitric oxide, nitrogen dioxide and ozone between pasture and the atmosphere". *Environ. Pollut.* **75**, 53-59.
- Harkov, R. & Brennan, E. (1979) "An ecophysiological analysis of the response of trees to oxydant pollution". *J. Air Poll. Control Assoc.* **29**, 157-161.
- Harnischfeger, G. & Zenk, G. (1983) "Regulation of light energy distribution between photosynthetic pigment systems; a possible role of leaf anatomy". *Z. Naturforsch Sect. C Biosci.* **38**, 600-603.
- Harris, G.C., Cheesbrough, J.K. & Walker, D.A. (1983b) "Effects of mannose on photosynthetic gaz exchange in spinach leaf discs". *Plant Physiol. (Bethesda)* **71**, 108-111.
- Harshbarger, W.R. & Robin, N.R. (1973) "The quenching of excited iodine atoms by oxygen molecules as studied by optoacoustic spectroscopy". *Chem. Phys. Lett.* **21**, 462-465.
- Haupt, W. (1982) "Light-mediated movement of chloroplasts". *Annu. Rev. Plant Physiol.* **33**, 205-233.
- Haupt, W. & Scheuerlein, R. (1990) "Chloroplast movement". *Plant Cell Physiol.* **13**, 595-614.
- Havaux, M. (1988) "Induction of photosynthesis in intact leaves under normal and stressing conditions followed simultaneously by transients in chlorophyll fluorescence and photoacoustically monitored O₂ evolution." *Plant Physiol. Biochem.* **26**, 695-704.
- Havaux, M. (1989) "Increased thermal deactivation of excited pigments in pea leaves subjected to photoinhibitory treatments". *Plant Physiol. (Bethesda)* **89**, 286-292.
- Havaux, M. (1991) "Is photosystem-I resistant to photoinhibition? An answer from *in vivo* measurements in intact leaves." Dans *7th International Topical Meeting on Photoacoustic and Photothermal Phenomena, Conference Digest and Technical Abstracts*, Doorwerth, the Netherlands, 324-325.
- Havaux, M. (1992a) "Photoacoustic measurements of cyclic electron flow around photosystem I in leaves adapted to light-states 1 and 2". *Plant Cell Physiol.* **33**, 799-803.
- Havaux, M. (1992b) "Stress tolerance of photosystem II *in vivo*. Antagonistic effects of water, heat, and photoinhibition stresses". *Plant Physiol. (Bethesda)* **100**, 424-432.
- Havaux, M., Canaani, O. & Malkin, S. (1986) "Photosynthetic responses of leaves to water stress, expressed by photoacoustics and related methods. I. Probing the photoacoustic method as an indicator for water stress *in vivo* ". *Physiol. Plant.* **82**, 827-833.
- Havaux, M., Canaani, O. & Malkin, S. (1987a) "Inhibition of photosynthetic activities under slow water stress measured *in vivo* by the photoacoustic method". *Physiol. Plant.* **70**, 503-510.
- Havaux, M., Canaani, O. & Malkin, S. (1987b) "Oxygen uptake by tobacco leaves after heat shock". *Plant Cell Environ.* **10**, 677-683.

- Havaux, M., Canaani, O. & Malkin, S. (1987c) "Rapid screening for heat tolerance in *Phaseolus* species using the photoacoustique technique". *Plant Sci. (Shanon)* **48**, 143-149.
- Havaux, M., Canaani, O. & Malkin, S. (1987d) "Extreme changes in the distribution of excitation energy in the photochemical apparatus of intact leaves induced by progressive heat stress". Dans *Progress in Photosynthesis Research*, (J. Biggens, éd.). Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Nehterlands, Vol. II, 13.749-13.752.
- Havaux, M., Ernez, M. & Lannoye, R. (1988a) "Quantification of physiological disorders in stressed plants". Dans *The Future of Cereals for Human Feeding and Development of Biotechnological Research* (G. Wittmer, éd.). Chamber of Commerce of Foggia, Italy, pp. 67-77.
- Havaux, M., Ernez, M., Panneels, P., Winterberg, A. & Lannoye, R. (1988b) "Measurement of light and heat emission in plant leaves: rapid quantitative methods for monitoring stress and herbicide effects on crop plants". *Meded. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent* **53**, 1739-1746.
- Havaux, M., Ernez, M., Panneels, P., Winterberg, A. & Lannoye, R. (1989) "Measurement of light and heat emission by plant leaves: rapid quantitative methods for monitoring stress and herbicide on crop plants". *Arch. Int. Physiol. Biochim.* **97**, 7.
- Havaux, M., Gruszecki, W.I., Dupont, I. & Leblanc, R.M. (1991) "Increased heat emission and its relationship to the xanthophyll cycle in pea leaves exposed to strong light stress". *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **8**, 361-370.
- Heagle, A.S. (1979a) "Effects of growth media, fertilizer rate and hour and season of exposure on sensitivity of four soybean cultivars to ozone". *Environ. Pollut.* **18**, 313-322.
- Heagle, A.S. (1979b) "Ranking of soybean cultivars for resistance to ozone using different ozone doses and response measures". *Environ. Pollut.* **19**, 1-10.
- Heagle, A.S. (1989) "Ozone and crop yield". *Annu. Rev. Phytopathol.* **27**, 397-423.
- Heagle, A.S., Body, D.E. & Heck, W.W. (1973) "An open-top chamber to assess the impact of air pollution on plants". *J. Environ. Qual.* **2**, 365-368.
- Heagle, A.S., Riordan, A.J. & Heck, W. (1979) "Fields methods to assess the impact of air pollutants on crop yield". *Proc. Air Pollut. Control Assoc. Annual Meeting*, Cincinatti, Ohio, 1-23.
- Heagle, A.S., Kress, L.W., Temple, P.J., Kohut, R.J., Miller, J.E. & Heggstad, H.E. (1988) "Factors influencing ozone dose-yield response relationships in open-top field chamber studies". Dans *Assessment of Crop Loss from Air Pollutants* (W.W. Heck, O.C. Taylor & D.T. Tingey, éd.). Elsevier Applied Science, New York, pp. 141-179.
- Heath, R.L. (1987) "The biochemistry of ozone attack on the plasma membrane of plant cells". *Recent Adv. Phytochem.* **21**, 29-54.
- Heath, R.L. (1988) "Biochemical mechanisms of pollutant stress:.. Dans *Proceeding International Conference on Assessment of Crop Loss from Air Pollutants* (W.W. Heck, O.C. Taylor & D.T. Tingey, éd.). Elsevier Applied Science, London, UK, pp. 259-286.
- Heath, R.L. & Castillo, F.J. (1988) Membrane disturbances in response to air pollutants. Dans *Air Pollution and Plant Metabolism* (S. Schulte-Hostede, N.M. Darrall, L.W. Blank & A.R. Wellburn, éd.). Elsevier, London, UK, pp. 55-75.
- Heck, W.W. (1966) "The use of plants as indicators of air pollution". *Int. J. Air Water Pollut.* **10**, 99-

111.

- Heck, W.W. & Dunning, J.A. (1967) "The effects of ozone on tobacco and pinto bean as conditioning by several ecological factors". *J. Air Pollut. Control Assoc.* **17**, 112-114.
- Heck, W.W., Dunning, J.A. & Hindawi, I.J. (1966) "Ozone: non-linear relation of dose and injury in plants". *Science (Wash. D.C.)* **151**, 577-578.
- Heck, W.W., Taylor, O.C., Adams, R., Bingham, G., Miller, J., Preston, E. & Weinstein, L.H. (1982) "Assessment of crop loss from ozone". *J. Air Pollut. Control Assoc.* **32**, 353-361.
- Heck, W.W., Adams, R.M., Cure, W.W., Heagle, A.S., Heggstad, H.E., Kohut, R.J., Kress, L.W., Rawlings, J.O. & Taylor, O.C. (1983) "A reassessment of crop loss from ozone". *Environ. Sci. Technol.* **17**, 572A-581A.
- Helander, P., Lundström, I. & McQueen, D (1981) "Photoacoustic study of layered samples". *J. Appl. Phys.* **52**, 1146-1151.
- Hendershot, W.H. & Jones, A.R.C. (1989) "Maple decline in Quebec: a discussion of possible causes and the use of fertilizers to limit damage". *For. Chron.* **65**, 280-287.
- Hepting, G.H. (1960) "Climate change and forest diseases". *Fifth World For. Cong.*, Seattle, WA **2**, 842-846.
- Hesketh, J.D. (1963) "Limitations to photosynthesis responsible for differences among species". *Crop. Sci.* **3**, 493-496.
- Hess, J.L. & Tolbert, N.E. (1966) "Glycolate, glycine, serine and glycerate formation during photosynthesis by tobacco leaves". *J. Biol. Chem.* **241**, 5705-5711.
- Hewitt, C.N., Kok, G.L. & Fall, R. (1990) "Hydroperoxides in plants exposed to ozone mediate air pollution damage to alkene emitters". *Nature (Lond.)* **344**, 56-58.
- Hibben, C.R. (1964) "Identity and significance of certain organisms associated with sugar maple decline in New York woodlands". *Phytopathology* **54**, 1389-1392.
- Hibben, C.R. (1969) "Ozone toxicity to sugar maple". *Phytopathology* **59**, 1423-1428.
- Hill, A.C., Pack, M.R., Treshow, M., Downs, R.F. & Transtrum, L.G. (1961) "Plant injury induced by ozone". *Phytopathology* **51**, 356-363.
- Hill, A.C., Heggstad, H.E. & Linzon, S.N. (1970) "Ozone". Dans *Recognition of Air Pollution Injury to Vegetation: a Pictorial Atlas*. (J.S. Jacobson & A.C. Hill, eds.). Air Pollution Control Association, Pittsburg, Pennsylvania, B1-B6.
- Hiscox, J.D. & Israelstam, G.F. (1979) "A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration". *Can. J. Bot.* **57**, 1332-1334.
- Hocking, D. & Hocking, M.B. (1977) "Equilibrium solubility of trace atmospheric sulphur dioxide in water and its bearing on air pollution injury to plants". *Environ. Pollut. Ser. A Ecol. Biol.* **13**, 57-64.
- Hogsett, W.E., Plocher, M., Wildman, V., Tingey, D.T. & Bennett, J.P. (1985) "Growth response of two varieties of slash pine seedlings to chronic ozone exposures". *Can. J. Bot.* **63**, 2369-2376.

- Holaday, A.S. & Chollet, R. (1984) "Photosynthetic/photorespiratory characteristics of C₃-C₄ intermediates species". *Photosynth. Res.* **5**, 307-323.
- Holden, M. (1976) "Chlorophylls". Dans *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, 2^{ème} édition. (T.W. Goodwin, éd.). Academic Press, New York, Vol. **2**, 1-37.
- Holloway, P.J. & Baker, E.A. (1970) "The cuticles of some Angiosperm leaves and fruits". *Ann. Appl. Biol.* **66**, 145-154.
- Holmgren, P. (1968) "Leaf factors affecting light-saturated photosynthesis in ecotypes of *Solidago virgaurea* from exposed and shaded habitats". *Physiol. Plant* **21**, 676-698.
- Homan, G. (1937) "Effect of ionized air and ozone on plants". *Plant Physiol. (Bethesda)* **12**, 957-978.
- Hou, L., Hill, A.C. & Soleimani, A. (1977) "Influence of CO₂ on the effects of SO₂ and NO₂ on alfalfa". *Environ. Pollut.* **12**, 7-16.
- Houston, D.R. (1967) "The dieback and decline of northeastern hardwoods". *Trees (Berl.)* **28**, 12-14.
- Houston, D.R. (1981) "Stress triggered tree diseases. The diebacks and declines". *USDA For. Serv. NE-INF-41-81*, 36 pages.
- Houston, D.R. & Kuntz, J.E. (1964) "Pathogens associated with maple blight". *Univ. Wisc. Res. Bull.* **250**, 59-79.
- Hov, O. (1984) "Ozone in the troposphere: high level pollution". *Ambio* **13**, 73-79.
- Howell, R.K., Koch, E.J. & Rose, L.P. Jr. (1979) "Field assessment of air pollution induced soybean yield losses". *Agron. J.* **71**, 285-288.
- Howse, G.M., Gross, H.L. & Rose, A.H. (1981) "Ontario region". Dans *1977 Annual Report on the Forest Insect and Disease Survey*. Department of the Environment, Government of Canada, Canadian Forestry Service, Ottawa, ON, pp. 53-69.
- Hoyle, M.C. (1965) "Variation in foliage composition and diameter growth of yellow birch with season, soil, and tree size". *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **29**, 475-480.
- Hull, H.M., Morton, H.L. & Wharrie, J.R. (1975) "Environmental influences on cuticle development and resultant foliar penetration". *Bot. Rev.* **41**, 421-452.
- Innes, J.L. (1988) "Forest health surveys - A critique". *Environ. Pollut.* **54**, 1-15.
- Innes, J.L. & Boswell, R.C. (1990) "Reliability, presentation, and relationships among data from inventories of forest condition". *Can. J. For. Res.* **20**, 790-799.
- Inoue, Y., Watanabe, A. & Shibata, K. (1979) "Transient variation of photoacoustic signal from leaves accompanying photosynthesis". *FEBS Lett.* **101**, 321-323.
- Inskip, W.P. & Bloom, P.R. (1985) "Extinction coefficients of chlorophyll *a* and *b* in N,N-dimethylformamide and 80% acetone". *Plant Physiol. (Bethesda)* **77**, 483-485.
- Izutani, Y., Takagi, S. & Nagai, R. (1990) "Orientation movements of chloroplasts in *Vallisneria* epidermal cells: different effects of light at low- and high-fluence rate". *Photochem. Photobiol.* **51**, 105-111.

- Janerette, C.A. (1977a) "The physiology of water uptake in seeds of *Acer saccharum* Marsh.". Ph. D. dissertation, North Carolina State University, Raleigh, N.C., 79 pages.
- Janerette, C.A. (1977b) "An *in vitro* study of seed dormancy in sugar maple". *For. Sci.* **24**, 43-49.
- Janerette, C.A. (1978) "The effects of soak temperature on sugar maple seed germination". *USDA Forest Serv. Res. Note NE-269*. Northeastern Forest Experimental Station, Upper Darby, PA, 2 pages.
- Janerette, C.A. (1979a) "Seed dormancy in sugar maple". *For. Sci.* **25**, 307-311.
- Janerette, C.A. (1979b) "The effects of water soaking on the germination of sugar maple seeds". *Seed Sci. Technol.* **7**, 341-346.
- Janerette, C.A. (1979c) "Cold soaking reduces the stratification requirement of sugar maple seeds". *Tree Plant. Notes* **30**, 3.
- Janicki, W. & Jones, A.R.C. (1990-1991) "Nutrient response to diagnostic fertilization of Norway Spruce *Picea abies* (L.) Karst plantations in western Quebec, Canada". *Water Air Soil Pollut.* **54**, 113-118.
- Jeffree, C.E., Baker, E.A. & Holloway, P.J. (1975) "Ultrastructure and recrystallization of plant epicuticular waxes". *New Phytol.* **75**, 539-549.
- Jensen, K.F. (1973) "Response of nine forest tree species to chronic ozone fumigation". *Plant Dis. Rep.* **57**, 914-917.
- Jensen, K.F. (1982) "An analysis of the growth of silver maple and eastern cottonwood seedlings exposed to ozone". *Can. J. For. Res.* **12**, 420-424.
- Jespersen, A.-M. & Christoffersen, K. (1987) "Measurements of chlorophyll-a from phytoplankton using ethanol as extraction solvent". *Arch. Hydrobiol.* **109**, 445-454.
- Johnson, A.H. & Siccama, T.C. (1983) "Acid deposition and forest decline". *Envir. Sci. Technol.* **17**, 294A-305A.
- Johnson, A.H. & Siccama, T.C. (1984) "Decline of red spruce in the northern Appalachians: assessing the possible role of the acid deposition". *Tappi J.* **67**, 68-72.
- Johnson, A.H., Cook, E.R. & Siccama, T.G. (1988) "Climate and red spruce growth and decline in the northern Appalachians". *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **85**, 5369-5373.
- Jones, T. & Mansfield, T.A. (1982) "The effect of SO₂ on growth and development of seedlings of *Phleum pratense* under different light and temperature environments". *Environ. Pollut. Ser. A Ecol. Biol.* **27**, 57-71.
- Jung, G. & Wild, A. (1988) "Electron microscopic studies of spruce needles in connection with the occurrence of novel forest decline". *J. Phytopathol. (Berl.)* **122**, 1-12.
- Jurik, T.W. (1986a) "Seasonal patterns of leaf photosynthetic capacity in successional northern hardwood tree species". *Am. J. Bot.* **73**, 131-138.
- Jurik, T.W. (1986b) "Temporal and spatial patterns of specific leaf weight in successional northern hardwood tree species". *Am. J. Bot.* **73**, 1083-1092.

- Jurik, T.W., Chabot, J.F. & Chabot, B.F.** (1979) "Ontogeny of photosynthetic performance in *Fragaria virginiana* under changing light regimes". *Plant Physiol. (Bethesda)* **63**, 542-547.
- Kannangara, C.G., Gough, S.P., Hansen, B., Rasmussen, J.N. & Simpson, D.J.** (1977) "A homogenizer with replaceable razor blades for bulk isolation of active barley plastids". *Carlsberg Res. Commun.* **42**, 431-439.
- Kasana, M.S.** (1991) "Sensitivity of three leguminous crops to O₃ as influenced by different stages of growth and development". *Environ. Pollut.* **69**, 131-149.
- Katainen, H.S., Mäkinen, E., Jokinen, J., Kasjalainen, R. & Kellonäki, S.** (1987) "Effects of SO₂ on the photosynthetic and respiration rates in scots pine seedlings". *Environ. Pollut.* **46**, 241-251.
- Kato, T., Kasuya, M., Kagamimori, S., Kozuka, H. & Kawano, S.** (1989) "Inhibition of the shikimate pathway in the leaves of vascular plants exposed to air pollution". *New Phytol.* **112**, 363-367.
- Keller, T. & Häslér, R.** (1984) "The influence of a fall fumigation with ozone on the stomatal behavior of spruce and fir". *Oecologia (Berl.)* **64**, 284-286.
- Keller, T. & Häslér, R.** (1987) "Some effects of long-term ozone fumigations on Norway spruce. I. Gas exchange and stomatal response". *Trees (Berl.)* **1**, 129-133.
- Kessler, K.J. Jr.** (1963) "Dieback of sugar maple, upper Michigan - 1962". *USDA Forest Serv. Res. Note LS-13*, Lake States Forest Experimental Station, 2 pages.
- Khan, A.A. & Malhotra, S.S.** (1977) "Effects of aqueous sulphur dioxide on pine needle glycolipids". *Phytochemistry (Oxf.)* **16**, 539-543.
- Khan, A.A. & Malhotra, S.S.** (1982) "Ribulose biphosphate carboxylase and glycolate oxidase from jack pine: effects of sulphur dioxide fumigation". *Phytochemistry (Oxf.)* **21**, 2607-2612.
- Kimmerer, T.W. & Kozłowski, T.T.** (1981) "Stomatal conductance and sulphur uptake of five clones of *Populus tremuloides* exposed to sulphur dioxide". *Plant Physiol. (Bethesda)* **67**, 990-995.
- Kirkbright, G.F., Miller, R.M., Spillane, D.E.M. & Vickery, I.P.** (1984) "Impulse response photoacoustic spectroscopy of biological samples". *Analyst (London)* **109**, 1443-1447.
- Knabe, W.** (1976) "Effects of sulfur dioxide on terrestrial vegetation". *Ambio* **5**, 213-218.
- Knapp, A.K., Vogelmann, T.C., McClean, T.M. & Smith, W.K.** (1988) "Light and chlorophyll gradients within *Cucurbita* cotyledons". *Plant Cell Environ.* **11**, 257-263.
- Knudson Butler, L. & Tibbitts, T.W.** (1979) "Variation in ozone sensitivity and symptom expression among cultivars of *Phaseolus vulgaris* L.". *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* **104**, 208-210.
- Koizumi, M., Kano, H., Katsura, N. & Inada, K.** (1990) "The effect of chlorophyll concentration on changes of photochemical reactions in intact kidney bean leaves". *Plant Cell Environ.* **13**, 65-71.
- Koller, D.** (1990) "Light-driven leaf movements". *Plant Cell Environ.* **13**, 615-632.
- Kondo, E.S. & Taylor, R.G.** (1985) "Forest insect and disease conditions in Canada 1984". Government of Canada, Canadian Forestry Service, Ottawa, ON, 76 pages.
- Koukol, J. & Dugger, W.M., Jr.** (1967) "Anthocyanin formation as a response to ozone and smog

- treatment in *Rumex crispus* L.". *Plant Physiol. (Bethesda)* **42**, 1023-1024.
- Kozlowski, T.T., Davies, W.J. & Carlson, S.D. (1974) "Transpiration rates of *Fraxinus americana* and *Acer saccharum* leaves". *Can. J. For. Res.* **4**, 259-267.
- Kramer, G.F., Lee, E.H., Rowland, R.A. & Mulchi, C.L. (1991) "Effects of elevated CO₂ concentration on the polyamine levels of field-grown soybean at three O₃ regimes". *Environ. Pollut.* **73**, 137-152.
- Krause, C.R. (1982) "Differentiation of black and sugar maple cultivars with scanning electron microscopy". *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* **107**, 186-188.
- Krause, G.H. & Weis, E. (1988) "The photosynthetic apparatus and chlorophyll fluorescence. An introduction". Dans *Applications of Chlorophyll Fluorescence* (H.K. Lichtenthaler, éd.). Kluwer Academic Publishers, New York, pp. 3-11.
- Kress, L.W. & Skelly, J.M. (1982) "Response of several eastern forest trees species to chronic ozone and nitrogen dioxide". *Plant Dis.* **66**, 1149-1152.
- Kreuzer, L.B. & Patel, C.K.N. (1971) "Nitric oxide air pollution. Detection by optoacoustic spectroscopy". *Science (Wash. D. C.)* **173**, 45-47.
- Kriebel, H.B. (1957) "Patterns of genetic variation in sugar maple". Research Bul. **791**, Ohio Agricultural Experiment Station, Wooster, Ohio, 56 pages.
- Krupa, S. & Kickert, R.N. (1987) "An analysis of numerical models of air pollutant exposure and vegetation response". *Environ. Pollut.* **44**, 127-158.
- Kutík, J. (1989) "Ultrastructure of chloroplasts in palisade and spongy parenchyma cells during development of primary bean leaves". *Photosynthetica (Prague)* **23**, 678-681.
- Labeda, D.P. & Alexander, M. (1978) "Effects of SO₂ and NO₂ on nitrification in soil". *J. Environ. Qual.* **7**, 523-526.
- Lacasse, N.L. & Rich, A.E. (1964) "Maple decline in New Hampshire". *Phytopathology* **54**, 1071-1075.
- Lachance, D. (1985) "Répartition géographique et intensité du dépérissement de l'érable à sucre dans les érablières du Québec". *Phytoprotection* **66**, 83-90.
- Laisk, A., Kull, O. & Moldau, H. (1989) "Ozone concentration in leaf intercellular air spaces is close to zero". *Plant Physiol. (Bethesda)* **90**, 1163-1167.
- Laitat, E. & Impens, R. (1985) "Surveillance du dépérissement des forêts en Belgique". *Pollut. Atmos.* **105**, 16-23.
- Lange, O.L., Lösch, R., Schulze, E.-D. & Kappen, L. (1971) "Response of stomata to changes in humidity". *Planta (Berl.)* **100**, 76-86.
- Langner, J., Rodhe, H., Crutzen, P.J. & Zimmermann, P. (1992) "Anthropogenic influence on the distribution of tropospheric sulphate aerosol". *Nature* **359**, 712-716.
- Larcher, W. (1969) "The effect of environmental and physiological variables on the carbon dioxide gas exchange in trees". *Photosynthetica (Prague)* **3**, 167-198.

- Lasser-Ross, N., Malkin, S. & Cahen, D. (1980) "Photoacoustic detection of photosynthetic activities in isolated chloroplasts". *Biochim. Biophys. Acta* **593**, 330-341.
- Leaf, A.L. (1973) "Plant analysis as an aid in fertilizing forests". Dans *Soil Testing and Plant Analysis* (L.M. Walsh & J.D. Beaton, éds.). Special publication No. 2, revised ed. Soil Science Society of America, Madison, WI, 427-454.
- Ledbetter, M.C., Zimmerman, P.W. & Hitchcock, A.E. (1959) "The histopathological effects of ozone on plant foliage". *Contrib. Boyce Thompson Inst.* **20**, 275-282.
- Ledig, F.T. & Korbor, D.R. (1983) "Adaptation of sugar maple populations along altitudinal gradients: photosynthesis, respiration, and specific leaf weight". *Am. J. Bot.* **70**, 256-265.
- Lee, D.W. (1986) "Unusual strategies of light absorption in rain-forest herbs. Dans *On the Economy of Plant Form and Function* (T.J. Givnish, éd.). Cambridge University Press, Cambridge MA, pp. 105-126.
- Lee, E.H. (1991) "Plant resistance mechanisms to air pollutants: rhythms in ascorbic acid production during growth under ozone stress". *Chronobiol. Int.* **8**, 93-102.
- Lee, E.H. & Bennett, J.H. (1982) "Superoxide dismutase: a possible protective enzyme against ozone injury in snap beans (*Phaseolus vulgaris* L.)". *Plant Physiol. (Bethesda)* **69**, 1444-1449.
- Lee, E.H., Jersey, J.A., Gifford, C. & Bennett, J. (1984) "Differential ozone tolerance in soybean and snapbeans: analysis of ascorbic acid in O₃-susceptible and O₃-resistant cultivars by high-performance liquid chromatography". *Environ. Exp. Bot.* **24**, 331-341.
- Lee, E.H., Tingey, D.T. & Hogsett, W.E. (1988) "Evaluation of ozone exposure indices in exposure-response modeling". *Environ. Pollut.* **53**, 43-62.
- Lee, J.J. & Weber, D.E. (1980) "The effect of simulated acid rain on seedling emergence and growth of eleven woody species". *For. Sci.* **25**, 393-398.
- Lefohn, A.S., Runeckles, V.C., Krupa, S.V. & Shadwick, D.S. (1989) "Important considerations for establishing a secondary ozone standard to protect vegetation". *J. Air Pollut. Control Assoc.* **39**, 1039-1045.
- Lefohn, A.S., Krupa, S.V. & Winstanley, D. (1990a) "Surface ozone exposures measured at clean locations around the world". *Environ. Pollut.* **61**, 189-224.
- Lefohn, A.S., Shadwick, D.S. & Mohnen, V.A. (1990b) "The characterisation of ozone concentrations at a select set of high-elevation sites in the Eastern United States". *Environ. Pollut.* **67**, 147-178.
- Legge, A.H., Nosal, M., McVehil, G.E. & Krupa, S.V. (1991) "Ozone and the clean troposphere: ecological implications". *Environ. Pollut.* **70**, 157-175.
- Lei, T.T. & Lechowicz, M.J. (1990) "Shade adaptation and shade tolerance in saplings of three *Acer* species from eastern North America". *Oecologia (Berl.)* **84**, 224-228.
- Lewandowska, M. & Jarvis, P.G. (1977) "Changes in chlorophyll and carotenoid content, specific leaf area and dry weight fraction in Sitka spruce, in response to shading and season". *New Phytol.* **79**, 247-256.
- Libera, W., Ziegler, H. & Ziegler, I. (1973) "Förderung der Hill-Reaktion und der CO₂ Fixierung in isolierten Spinatchloroplasten durch niedrige Sulfatkonzentrationen". *Planta (Berl.)* **109**, 269-279.

- Lichtenthaler, H.K.** (1985) "Differences in morphology and chemical composition of leaves grown at different light intensities and qualities". Dans *Control of Leaf Growth* (N.R. Baker, W.J. Davies & C.K. Ong, éds.). Cambridge University Press, New York, *Society for Experimental Biology Seminar Series* 27, 201-221.
- Lichtenthaler, H.K.** (1987) "Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes". *Methods Enzymol.* 148, 350-382.
- Lichtenthaler, H.K. & Wellburn, A.R.** (1983) "Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents". *Biochem. Soc. Trans.* 603, 591-592.
- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C., Rinderle, U. & Schmuck, G.** (1986) "Application of chlorophyll fluorescence in ecophysiology". *Radiat. Environ. Biophys.* 25, 297-308.
- Likens, G.E.** (1976) "Acid rain". *Chem. Eng. News* 54, 29-44.
- Lockyer, D.R. & Cowling, D.W.** (1981) "Growth of lucerne (*Medicago sativa* L.) exposed to sulphur dioxide". *J. Exp. Bot.* 32, 1333-1341.
- Logan, J.A.** (1989) "Ozone in the rural areas of the United States". *J. Geophys. Res.* 94, 8511-8532.
- Logan, K.T. & Krotkov, G.** (1968) "Adaptations of the photosynthetic mechanism of sugar maple (*Acer saccharum*) seedlings grown in various light intensities". *Physiol. Plant.* 22, 104-116.
- Lorenc-Plucińska, G.** (1978) "Effect of sulphur dioxide on photosynthesis, photorespiration and dark respiration of Scots pine differing in resistance to this gaz". *Arbor. Kornichie* 23, 133-144.
- Lorenc-Plucińska, G. & Ziegler, H.** (1987a) "The effect of sulphite on sucrose uptake and translocation in the cotyledons of castor bean". *J. Plant Physiol.* 127, 97-110.
- Lorenc-Plucińska, G. & Ziegler, H.** (1987b) "Effect of sulfite and sulfhydryl reagents on the phloem loading in cotyledons of *Ricinus communis* L.". *J. Plant Physiol.* 128, 417-424.
- Lorenc-Plucińska, G. & Ziegler, H.** (1988) "Interaction of membrane effectors and sulfite in sucrose uptake of *Ricinus communis* cotyledons". *J. Plant Physiol.* 133, 96-102.
- Lorenc-Plucińska, G. & Ziegler, H.** (1989) "Mechanisms of sugar uptake inhibition by sulfite in leaf discs and protoplasts of *Vicia faba* L.". *Biochem. Physiol. Pflanz.* 184, 107-126.
- Lorenc-Plucińska, G., Miszalski, Z. & Ziegler, H.** (1989) "Sugar transport and sulfite action in etioprotoplasts, semi-etiprotoplasts and green protoplasts of *Avena sativa* L.". *Bot. Acta* 102, 37-45.
- Lork, W. & Fukshansky, L.** (1985) "The influence of chlorophyll fluorescence on the light gradients and the phytochrome state in a green model leaf under natural conditions". *Plant Cell Environ.* 8, 33-39.
- Lorrain, L., Havaux, M., Tessier, A. & Leblanc, R.M.** (1990) "Photothermal deflection spectroscopy of photosynthetic pigments *in vivo* and *in vitro*". *Photochem. Photobiol.* 51, 491-496.
- Lucas, P.W., Cottam, D.A., Sheppard, L.J. & Francis, B.J.** (1988) "Growth responses and delayed winter hardening in Sitka spruce following summer exposure to ozone". *New Phytol.* 108, 495-504.
- Mac Donald, F.A. & Wetsel, G.C., Jr.** (1978) "Generalized theory of the photoacoustic effect". *J.*

- Appl. Phys.* **49**, 2313-2332.
- Mackay, C.E., Senaratna, T., McKersie, B.D. & Fletcher, R.A.** (1987) "Ozone induced injury to cellular membranes in *Triticum aestivum* L. and protection by triazole S-3307". *Plant Cell Physiol.* **28**, 1271-1278.
- MacKinney, G.** (1940) "Criteria for purity of chlorophyll preparations". *J. Biol. Chem.* **132**, 91-109.
- MacKinney, G.** (1941) "Absorption of light by chlorophyll solutions". *J. Biol. Chem.* **140**, 315-322.
- Madamanchi, N.R. & Alscher, R.G.** (1991) "Metabolic bases for differences in sensitivity of two pea cultivars to sulfur dioxide". *Plant Physiol. (Bethesda)* **97**, 88-93.
- Mahlman, J.D. & Moxim, W.J.** (1978) "Tracer simulation using a global general circulation model: results from a mid-latitude instantaneous source experiment". *J. Atmos. Sci.* **35**, 1340-1374.
- Malkin, S.** (1986) "Photoacoustic probing of energy storage and gas exchange in the photosynthesis of leaves". *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2*, 2233-2235.
- Malkin, S.** (1987) "Fast photoacoustic transients from dark-adapted intact leaves: oxygen evolution and uptake pulses during photosynthetic induction - a phenomenological record". *Planta (Berl.)* **171**, 65-72.
- Malkin, S. & Cahen, D.** (1979) "Photoacoustic spectroscopy and radiant energy conversion: theory of the effect with special emphasis on photosynthesis". *Photochem. Photobiol.* **29**, 803-813.
- Malkin, S., Lasser-Ross, N., Bults, G. & Cahen, D.** (1981a) "Photoacoustic spectroscopy in photosynthesis". Dans *Photosynthesis III. Structure and Molecular Organisation of the Photosynthetic Apparatus* (G. Akoyunoglou, éd.). Balaban International Science Services, Philadelphia, PA, pp. 1031-1042.
- Malkin, S., Bults, G., Horwitz, B.A., Lasser-Ross, N. & Cahen, D.** (1981b) "Photoacoustic in photosynthesis". Dans *2nd Topical Meeting on Photoacoustic Spectroscopy, Technical Digest*, Berkeley, CA, ThB1-1-ThB1-4.
- Malkin, S., Charland, M. & Leblanc, R.M.** (1992) "A photoacoustic study of water infiltrated leaves". *Photosynth. Res.* **33**, 37-50.
- Maltais, B.** (1991) "Les dommages causés par l'ozone à la végétation et aux cultures: la situation au Québec". Dans *Colloque sur les Précipitations Acides et sur le Pollution par l'Ozone*. Environnement Canada, Environnement Québec et Association pour la Prévention de la Contamination de l'Air et du Sol, Montréal (sous presse).
- Mancinelli, A.L.** (1991) "Phytochrome-mediated detection of changes in reflected light". *Plant Physiol. (Bethesda)* **95**, 144-151.
- Mandl, R.H., Weinstein, L.H., McCune, D.C. & Keveny, M.** (1973) "A cylindrical, open-top chamber for the exposure of plants to air pollutants in the field". *J. Environ. Qual.* **2**, 371-376.
- Manion, P. D.** (1981) "Tree disease concepts". Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 399 pages.
- Mann, L.K., McLaughlin, S.B. & Shriner, S.** (1980) "Seasonal physiological responses of white pine under chronic air pollution stress". *Environ. Exp. Bot.* **20**, 99-105.

- Mansfield, T.A. & Jones, T. (1985) "Growth environment interactions in SO₂ reponses of grasses". Dans *Sulphur Dioxide and Vegetation* (W.E. Winner, H.A. Mooney & R.A. Goldstein, éds.). Stanford University Press, CA, pp. 332-345.
- Marquard, R.D. & Tipton, J.L. (1987) "Relationship between extractable chlorophyll and an *in situ* method to estimate leaf greenness". *HorsScience* **22**, 1327.
- Marques, I. & Anderson, L.E. (1986) "Effects of arsenite, sulfite and sulfate on photosynthetic carbon metabolism in isolated pea (*Pisum sativum* L., cv Little Marvel) chloroplasts". *Plant Physiol. (Bethesda)* **82**, 488-493.
- Marquezini, M.V., Cella, N., Silva, E.C., Serra, D.B., Lima, C.A.S., Vargas, H., Prioli, A.J. & da Silva W.J. (1990) "Photoacoustic assessment of the *in vivo* genotypical response of corn to toxic aluminium". *Analyst (London)* **115**, 341-343.
- Martin, J.T. & Batt, R.F. (1958) "Studies on plant cuticles. I. The waxy coverings of leaves". *Ann. Appl. Biol.* **46**, 375-387.
- Martin, U., Pallardy, S.G. & Bahari, Z.A. (1987) "Dehydration tolerance of leaf tissues of six woody angiosperm species". *Physiol. Plant.* **69**, 182-186.
- Matsuoka, Y. (1978) "Experimental studies of sulphur dioxide injury on rice plant and its mechanism". *Special Bull. Chiba-Ken Agric. Exp. Sta.* **7**, 1-63.
- Mauzerall, D. (1990) "Determination of oxygen emission and uptake in leaves by pulsed, time resolved photoacoustics". *Plant Physiol. (Bethesda)* **94**, 278-283.
- Mayo, J.M., Legge, A.H., Yeung, E.C., Krupa, S.V. & Bogner, J.C. (1992) "The effects of sulphur gas and elemental sulphur dust deposition on *Pinus contorta* x *Pinus banksiana*: cell walls and water relations". *Environ. Pollut.* **76**, 43-50.
- McClendon, J.H. (1962) "The relationship between the thickness of deciduous leaves and their maximum photosynthetic rate". *Am. J. Bot.* **49**, 320-322.
- McFarland, M. & Kaye, J. (1992) "Chlorofluorocarbons and ozone". *Photochem. Photobiol.* **55**, 911-929.
- McGauley, B.H. (1983) "Maple decline in Ontario". Briefing Note, Pest Control Section, Forest Resource Branch, Ministry of Natural Ressources, Maple, Ontario.
- McIlveen, W.D., Rutherford, S.T. & Linzon, S.N. (1986) "A historical perspective of sugar maple decline within Ontario and outside of Ontario". Ontario Ministry of the Environment, ARB-141-86-PHYTO, 39 pages.
- McIlveen, W.D., McLaughlin, D.L. & Arnup, R.W. (1989) "A survey to document the decline status of the sugar maple forest of Ontario: 1986". Ontario Ministry of the Environment, ARB-158-88-PHYTO, APIOS-010-88, 85 pages.
- McLaughlin, D.L., Linzon, S.N., Dimma, D.E. & McIlveen, W.D. (1985) "Sugar maple decline in Ontario". Ontario Ministry of the Environment, ARB-144-85-PHYTO, APIOS-026-85, 18 pages.
- McLaughlin, S.B. (1985) "Effects of air pollution on forest. A critical review". *J. Air Pollut. Control Assoc.* **35**, 512-521.
- McLaughlin, S.B. & McConathy, R.K. (1983) "Effects of SO₂ and O₃ on allocation of ¹⁴C-labeled

- photosynthetate in *Phaseolus vulgaris*". *Plant Physiol. (Bethesda)* **73**, 630-635.
- McLaughlin, S.B. & Taylor, G.E.** (1980) "Relative humidity - Important modifier of pollutant uptake by plants". *Science (Wash. D. C.)* **211**, 167-169.
- McLaughlin, S.B., McConathy, R.K., Duvick, D. & Mann, L.K.** (1982) "Effects of chronic air pollution stress on photosynthesis, carbon allocation, and growth of pine trees". *For. Sci.* **28**, 60-70.
- Meeks, J.C.** (1974) "Chlorophyll". Dans *Algal Physiology and Biochemistry* (W.D.P. Stewart, éd.). University of California Press, CA, pp. 161-175.
- Megie, G.** (1988) "Les modifications chimiques de l'atmosphère et leurs effets sur l'environnement". *Pollut. Atmos.* **117**, 5-11.
- Mehlhorn, H. & Wellburn, A.R.** (1987) "Stress ethylene formation determines plant sensitivity to ozone". *Nature (Lond.)* **327**, 417-418.
- Mehlhorn, H. & Wellburn, A.R.** (1988) "Ozone toxicity mechanisms in plants and animals". Dans *Free Radicals Chemistry, Pathology and Medicine*, (C. Rice-Evans & T. Dormandy, éd.). Richelieu Press, London, 253-270.
- Mehlhorn, H., Tabner, B.J. & Wellburn, A.R.** (1990) "Electron spin resonance evidence for the formation of free radicals in plants exposed to ozone". *Physiol. Plant.* **79**, 377-383.
- Meier, S., Grand, L.F., Schoeneberger, M.M., Reinert, R.A. & Bruck, R.I.** (1990) "Growth, ectomycorrhizae and nonstructural carbohydrates of loblolly pine seedlings exposed to ozone and soil water deficit". *Environ. Pollut.* **64**, 11-27.
- Menser, H.A., Heggstad, H.E. & Street, O.E.** (1963) "Response of plants to air pollutants. II. Effects of O₃ concentration and leaf maturity on injury to *Nicotiana tabacum*". *Phytopathology* **53**, 1304-1308.
- Middleton, J.T., Kendrick, J.B. Jr. & Schwalm, H.W.** (1950) "Injury to herbaceous plants by smog or air pollution". *Plant Dis. Rep.* **34**, 245-252.
- Miller, P.R., Parmeter, J.R., Flick, B.H. & Martinez, C.W.** (1969) "Ozone dosage response of ponderosa pine seedlings". *J. Air Pollut. Control Assoc.* **19**, 435-438.
- Miszalski, Z. & Ziegler, H.** (1989) "Sulfite sensitivity of oat (*Avena sativa* L.) protoplasts". *Biochem. Physiol. Pflanz.* **185**, 233-243.
- Miyake, H., Matsumara, H., Fujinuma, Y. & Totsuka, T.** (1989) "Effects of low concentrations of ozone on the fine structure of radish leaves". *New Phytol.* **111**, 187-195.
- Moldau, H., Kull, O., Söber, J. & Norby, R.J.** (1991) "Differential response of CO₂ uptake parameters of soil- and sand-grown *Phaseolus vulgaris* (L.) plants to absorbed ozone flux". *Environ. Pollut.* **74**, 251-261.
- Montiel-Canobra, P.O., Darrall, N.M. & Bradbeer, J.W.** (1991) "Open-air fumigation of winter barley with sulphur dioxide: effects on growth of the flag leaf and enzymes of photosynthetic carbon metabolism". *Agric. Ecosyst. Environ.* **33**, 293-308.
- Moran, R. & Porath** (1980) "Chlorophyll determination in intact tissues using N,N-dimethylformamide". *Plant Physiol. (Bethesda)* **65**, 478-479.

- Morré, D.J., Selldén, G., Ojanperä, K., Sandelius, A.S., Egger, A., Morré, D.M., Chalko, C.M. & Chalko, R.A. (1990) "Peroxisome proliferation in Norway spruce induced by ozone". *Protoplasma* **155**, 58-65.
- Morrison, I.K. (1985) "Effect of crown position on foliar concentrations of 11 elements in *Acer saccharum* and *Betula alleghaniensis* trees on a till soil". *Can. J. For. Res.* **15**, 179-183.
- Moss, D.N. (1964) "Optimum lighting of leaves". *Crop Sci.* **4**, 131-136.
- Mudd, J.B. (1975) "Sulfur dioxide". Dans *Responses of Plants to Air Pollution* (J.B. Mudd & T.T. Kozlowski, éd.). Academic Press, New York, pp. 9-22.
- Mudd, J.B., McManus, T.T., Ongun, A. & McCullough, T.E. (1971) "Inhibition of glycolipid biosynthesis in chloroplasts by ozone and sulfhydryl reagent". *Plant Physiol. (Bethesda)* **48**, 335-339.
- Mudd, J.B., Banerjee, S.K., Dooley, M.M. & Knight, K.L. (1984) "Pollutants and plant cells: effects on membranes". Dans *Gaseous Air Pollutants and Plant Metabolism* (M.J. Koziol & F.R. Whalley, éd.). Butterworth Scientific, London UK, pp.105-116.
- Muller, R.N., Miller, J.E. & Sprugel, D.G. (1979) "Photosynthetic response of field-grown soybeans to fumigations with sulphur dioxide". *J. Appl. Ecol.* **16**, 567-576.
- Murray, F. & Wilson, S. (1990a) "Yield responses of soybean, maize, peanut and navy bean exposed to SO₂, HF and their combination". *Environ. Exp. Bot.* **30**, 215-223.
- Murray, F. & Wilson, S. (1990b) "Growth responses of barley exposed to SO₂". *New Phytol.* **114**, 537-541.
- Murray, F. & Wilson, S. (1991) "The effects of SO₂ on the final growth of *Medicago truncatula*". *Environ. Exp. Pollut.* **31**, 319-325.
- Nagel, E.M., Buschmann, C. & Lichtenthaler, H.K. (1987) "Photoacoustic spectra of needles as an indicator of the activity of the photosynthetic apparatus of healthy and damaged conifers". *Physiol. Plant.* **70**, 427-437.
- Nátr, L. (1969) "Influence of assimilate accumulation on the rate of photosynthesis of barley leaf segments". *Photosynthetica (Prague)* **3**, 120-126.
- Nátr, L. & Špidla, J. (1961) "Application of the leaf-disk method to the determination of photosynthesis in cereals". *Biol. Plant. (Prague)* **3**, 245-251.
- Ni, B.-R. & Pallardy, S.G. (1992) "Stomatal and nonstomatal limitations to net photosynthesis in seedlings of woody Angiosperms". *Plant Physiol. (Bethesda)* **99**, 1502-1508.
- Nobel, P.S. (1977) "Internal leaf area and cellular CO₂ resistance: photosynthetic implications of variations with growth conditions and plant species". *Physiol. Plant.* **40**, 137-144.
- Nobel, P.S., Zaragoza, L.J. & Smith, W.K. (1975) "Relation between mesophyll surface area, photosynthetic rate, and illumination level during development for leaves of *Plectranthus parviflorus* Henckel". *Plant Physiol. (Bethesda)* **55**, 1067-1070.
- Noble, R.D. & Jensen, K.F. (1980) "Effects of sulfur dioxide and ozone on growth of hybrid poplar leaves". *Am. J. Bot.* **67**, 1005-1009.

- Noble, R., Jensen, K.F., Ruff, B.S. & Loats, K. (1992) "Response of *Acer saccharum* seedlings to elevated carbon dioxide and ozone". *Ohio J. Sci.* **92**, 60-62.
- Nordine, R.M. (1952) "Collecting, storage and germination of maple seed". *Proc. Plant Propag. Soc.* **2**, 62-64.
- Nouchi, I. & Aoki, K. (1979) "Morning glory as a photochemical oxidant indicator". *Environ. Pollut.* **18**, 289-293.
- Nouchi, I. & Tokama, S. (1988) "Effects of O₃ and peroxyacetylnitrate on polar lipids and fatty acids in leaves of morning glory and kidney bean". *Plant Physiol. (Bethesda)* **87**, 638-646.
- Nouchi, I., Takasaki, T. & Totsuka, T. (1988) "Relative photochemical oxidant sensitivity of agricultural and horticultural plants". *J. JPN. Soc. Air Pollut.* **23**, 355-370.
- N'soukpoé-Kossi, C.N. & Leblanc, R.M. (1990) "Application of photoacoustic spectroscopy in photosynthesis research". *J. Mol. Struct.* **217**, 69-84.
- Ogawa, T. & Shibata, K. (1965) "A sensitive method for determining chlorophyll *b* in plant extracts". *Photochem. Photobiol.* **4**, 193-200.
- Olszyk, D.M. & Tingey, D.T. (1984) "Phytotoxicity of air pollutants. Evidence for the photodetoxification of SO₂ but not O₃". *Plant Physiol. (Bethesda)* **74**, 999-1005.
- Olszyk, D.M., Tibbits, T.W. & Hertzberg, W.M. (1980) "Environment in open-top chambers utilized for air pollution studies". *J. Environ. Qual.* **9**, 610-615.
- Olszyk, D.M., Byternowicz, A & Takemoto, B.K. (1989) "Photochemical oxidant pollution and vegetation: effects of mixtures of gases, fog and particules". *Environ. Pollut.* **61**, 11-29.
- Oltmans, S.J. & Levy, H. II (1992) "Seasonal cycle of surface ozone over the western North Atlantic". *Nature (Lond.)* **358**, 392-394.
- Ortner, P.B. & Rosencwaig, A. (1977) "Photoacoustic spectroscopic analysis of marine phytoplankton". *Hydrobiologia* **56**, 3-6.
- Oshima, R.J., Braegelmann, P.K., Baldwin, D.W., Van Way, V. & Taylor, O.C. (1977) "Responses of five cultivars of fresh market tomato to ozone: a contrast of cultivar screening with foliar injury and yield". *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* **102**, 286-289.
- Ottar, B. (1978) "An assessment of the OECD study on OECD study on long range transport of air pollutants (LTRAP)". *Atmos. Environ.* **12**, 445-454.
- Owens, T.G., Carpentier, R. & Leblanc, R.M. (1990) "Detection of photosynthetic energy storage in a photosystem I reaction center preparation by photoacoustic spectroscopy". *Photosynth. Res.* **24**, 201-208.
- Pande, P.C. (1984) "*Sorghum* development and sensitivity to SO₂ and NO₂ singly and in mixtures". *Agric. Ecosyst. Environ.* **11**, 197-202.
- Parker, J. & Houston, D.R. (1971) "Effects of repeated defoliation on root and root collar extractions of sugar maple trees". *For. Sci.* **17**, 91-95.
- Parker, J.G. (1973) "Optical absorption in glass. Investigation using acoustic technique". *Appl. Opt.* **12**, 2974-2977.

- Patton, L. & Jones, M.B. (1989) "Some relationships between leaf anatomy and photosynthetic characteristics of willows". *New Phytol.* **111**, 657-661.
- Patton, R.L. (1981) "Effects of ozone and sulfur dioxide on height and stem specific gravity of *Populus* hybrids". *USDA For. Ser. Res. Pap. NE-471*. Northeastern For. Exp. Stn., Broomall, PA, 28 pages.
- Paul, J. & Bassham, J.A. (1978) "Effects of sulfite on metabolism in isolated mesophyll cells from *Papaver somniferum*". *Plant Physiol. (Bethesda)* **62**, 210-214.
- Peiser, G.D. & Yang, S.F. (1977) "Chlorophyll destruction by the bisulfite-oxygen system". *Plant Physiol. (Bethesda)* **60**, 277-281.
- Peiser, G.D. & Yang, S.F. (1985) "Biochemical and physiological effects of SO₂ on nonphotosynthetic processes in plants Dans *Sulfur Dioxide and Vegetation* (W.E. Winner, H.A. Mooney & R.A. Goldstein, éds.). Stanford University Press, Stanford, CA, pp. 148-161.
- Peiser, G.D., Lizada, C. & Yang, S.F. (1982) "Sulfite-induced lipid peroxidation in chloroplasts as determined by ethane production". *Plant Physiol. (Bethesda)* **70**, 994-998.
- Pell, E.J. & Weissberger, W.C. (1976) "Histopathological characterization of ozone injury to soybean foliage". *Phytopathology* **66**, 856-861.
- Pereira, J.S. & Kozlowski, T.T. (1977) "Influence of light intensity, temperature, and leaf area on stomatal aperture and water potential of woody plants". *Can. J. For. Res.* **7**, 145-153.
- Pfanz, H., Martinoia, E., Lange, O.L. & Heber, U. (1987a) "Mesophyll resistances to SO₂ fluxes into leaves". *Plant Physiol. (Bethesda)* **85**, 922-927.
- Pfanz, H., Martinoia, E., Lange, O.L. & Heber, U. (1987b) "Flux of SO₂ into leaf cells and cellular acidification by SO₂". *Plant Physiol. (Bethesda)* **85**, 928-933.
- Pierre, M. & Quieroz, O. (1988) "Air pollution by SO₂ amplifies the effect of water stress on enzymes and total soluble proteins of spruce needles". *Physiol. Plant. (Bethesda)* **73**, 412-417.
- Pierre, M. & Savouré, A. (1990) "Effects of water-stress and SO₂ pollution on spruce endoproteases". *Plant Physiol. Biochem.* **28**, 95-104.
- Plane, J.M.C. (1989) "Gas-phase atmospheric oxydation of biogenic sulfur compounds. A review". Dans *Biogenic Sulfur in the Environment* (E.S. Saltzman & W.J. Cooper, éds.). American Chemical Society, Washington DC. *ACS Symp. Ser.* **393**, 404-423.
- Pleijel, H., Skärby, L., Wallin, G. & Selldén (1991) "Yield and grain quality of Spring wheat (*Triticum aestivum* L., cv. Deabant) exposed to different concentrations of ozone in open-top chambers". *Environ. Pollut.* **69**, 151-168.
- Pomerleau, R. (1944) "Observations sur quelques maladies non parasitaires des arbres dans le Québec". *Can. J. Res. Sec. C Bot. Sci.* **22**, 171-189.
- Porra, R.J., Thompson, W.A. & Kriedemann, P.E. (1989) "Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy". *Biochim. Biophys. Acta* **975**, 384-394.
- Poulet, P. & Chambron, J. (1982-1983) "Conception and realization of a photoacoustic detector for

- in situ spectroscopy". *J. Photoacoust.* **1**, 329-346.
- Poulet, P., Cahen, D. & Malkin, S.** (1983) "Photoacoustic detection of photosynthetic oxygen evolution from leaves. Quantitative analysis by phase and amplitude measurements." *Biochim. Biophys. Acta* **724**, 433-446.
- Prescott, D.** (1988) *Cells*, Johnes & Bartlett, 640 pages.
- Prinz, B. & Brandt, C.J.** (1985) "Effects of air pollution on vegetation". Dans *Pollutants and their Ecotoxicological Significance* (H.W. Nürnberg, éd.). John Wiley & Sons Ltd., New York, pp. 67-84.
- Prinz, B., Krauze, G.H.M. & Jung, K.D.** (1985) "Responses of German forests in recent years: causes for concern elsewhere?". Dans *Effects of Acid Depositions on Forests, Wetlands and Agricultural Ecosystems*, Proceedings of NATO Advanced Workshop, May 1985, Springer-Verlag, Heidelberg.
- Pruchniewicz, P.G.** (1970) "Über ein Ozon-Registriergerät und Untersuchung der zeitlichen und räumlichen Variationen des troposphärischen Ozons auf Nordhalbkugel der Erde". Max Planck-Institut für Aeronomie, Springer, Berlin, Vol. **42**, 242 pages.
- Qifu, M. & Murray, F.** (1991) "Responses of potato plants to sulphur dioxide, water stress and their combination". *New Phytol.* **118**, 101-109.
- Rao, M.V. & Dubey, P.S.** (1990) "Biochemical aspects (antioxidants) for development of tolerance in plants growing at different low levels of ambient air pollutants". *Environ. Pollut.* **64**, 55-66.
- Raper, C.D. Jr. & Downs, R.J.** (1976) "Field phenotype in phytotron culture. A case study for tobacco". *Bot. Rev.* **42**, 317-343.
- Raschke, K.** (1975) "Stomatal action". *Annu. Rev. Plant. Physiol.* **26**, 309-340.
- Rathnam, C.K.M. & Chollet, R.** (1980) "Photosynthetic carbon metabolism in C₄ plants and C₃-C₄ intermediate species". *Prog. Phytochem.* **6**, 1-47.
- Raynal, D.J., Roman, J.R. & Eichenlaub, W.M.** (1982a) "Response of tree seedlings to acid precipitation. I. Effect of substrate acidity on seed germination". *Environ. Exp. Bot.* **22**, 377-383.
- Raynal, D.J., Roman, J.R. & Eichenlaub, W.M.** (1982b) "Response of tree seedlings to acid precipitation. II. Effect of simulated acidified canopy throughfall on sugar maple seedling growth". *Environ. Exp. Bot.* **22**, 385-392.
- Rehfuess, K.E.** (1987) "Perceptions of forest diseases in Central Europe". *Forestry (Oxf.)* **60**, 1-11.
- Rehfuess, K.E., Bosch, C. & Pfankuck, E.** (1982) "Nutrient imbalance in coniferous stands in southern Germany. Dans *International Workshop on Growth Disturbances of Forest Trees*. Int. Union For. Res. Organ., Jyväskylä, Finland.
- Reich, P.B.** (1983) "Effects of low concentrations of O₃ on net photosynthesis, dark respiration, and chlorophyll contents in aging hybrid poplar". *Plant Physiol. (Bethesda)* **73**, 291-296.
- Reich, P.B. & Amundson, R.G.** (1985) "Ambient levels of ozone reduce net photosynthesis in tree and crop species". *Science (Wash. D. C.)* **230**, 566-570.
- Reich, P.B. & Lassoie, J.P.** (1985) "Influence of low concentrations of ozone on growth, biomass partitioning and leaf senescence in young hybrid poplar plants". *Environ. Pollut.* **39**, 39-51.

- Reich, P.B., Schoettle, A.W., Amundson, R.G. & Troiano, J.** (1983) "Effects of low concentrations of O₃ and simulated acidic rain on net photosynthesis in sugar maple". Dans *Proceed. Second New York State Symp. Atmos. Depos.*, Albany, NY, 115-121.
- Reich, P.B., Schoettle, A.W. & Amundson, R.G.** (1985) "Effects of low concentrations of O₃, leaf age and water stress on leaf diffusive conductance and water use efficiency in soybean". *Physiol. Plant.* **63**, 58-64.
- Reich, P.B., Schoettle, A.W. & Amundson, R.G.** (1986) "Effect of O₃ and acidic rain on photosynthesis and growth in sugar maple and northern red oak seedlings". *Environ. Pollut. Ser. A Ecol. Biol.* **40**, 1-15.
- Reich, P.B., Walters, M.B. & Ellsworth, D.S.** (1991) "Leaf age and season influence the relationships between leaf nitrogen, leaf mass per area and photosynthesis in maple and oak trees". *Plant Cell Environ.* **14**, 251-259.
- Reinert, R.A., Tingey, D.T. & Carter, H.B.** (1972) "Ozone induced foliar injury in lettuce and radish cultivars". *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* **97**, 711-714.
- Reinert, R.A., Dunning, J.A., Heck, W.W., Benepal P.S. & Rangappa, M.** (1984) "Screening of bean (*Phaseolus vulgaris*) for sensitivity to ozone". *Hortscience* **19**, 86-88.
- Renard, M. & Lion, M.** (1982) "La spectroscopie photoacoustique et ses applications". *Rev. Quest. Sci.* **153**, 341-365.
- Renaud, J.P., Allard, G.B. & Boudreault, G.** (1992) "Les chambres de culture à ciel ouvert (open top chambers), des outils d'évaluation de la baisse de rendement associée à la pollution par l'ozone". Document en préparation.
- Rennenberg, H., Huber, B., Schröder, P., Stahl, K., Haunold, W., Georgii, H.W., Slovik, S. & Pfanz, H.** (1990) "Emission of volatile sulfur compounds from spruce trees". *Plant Physiol. (Bethesda)* **92**, 560-564.
- Rennie, P.J.** (1986) "A review of Canadian investigations". Dans *Acid deposition and forest health*. Session 9, 67th Annual Meeting, Woodlands Section, Canadian Pulp and Paper Association, Montréal, Québec.
- Rennie, P.J.** (1987a) "The significance of air pollution to forest decline in Canada". Dans *Workshop Proc. Forest Decline and Reproduction*, International Institute for Applied Systems Analysis, IIASA, Laxenburg, Austria.
- Rennie, P.J.** (1987b) "Air pollution and the forestry sector: challenges and requirements". Dans *IUFRO Workshop Proc. Woody Plant Growth in a Changing Physical and Chemical Environment*, IUFRO WG2.01-11, Vancouver, British Columbia.
- Ricci, P., Inhaber, H. & Pinchuk, M.** (1978) "Canadian urban air quality, 1971-1975". *Atmos. Environ.* **12**, 2369-2375.
- Rich, S. & Turner, N.C.** (1972) "Importance of moisture on stomatal behaviour of plants subjected to ozone". *J. Air Pollut. Control Assoc.* **22**, 718-721.
- Rich, S. & Walton, G.S.** (1979) "Decline of curbside sugar maples in Connecticut". *J. Arboric.* **5**, 265-268.
- Richards, B.L., Middleton, J.T. & Hewitt, W.B.** (1958) "Air pollution with relation to agronomic

- crops; V. oxidant stipple of grape". *Agron. J.* **50**, 559-561.
- Riffle, J.W. & Kuntz, J.L. (1966) "Nematodes in maple blight and maple decline areas in Wisconsin". *Plant Dis. Rep.* **50**, 677-681.
- Rock, B.N., Hoshizaki, T. & Miller, J.R. (1988) "Comparison of *in situ* and airborne spectral measurements of the blue shift associated with forest decline". *Rem. Sens. Environ.* **24**, 109-127.
- Ronen, R. & Galun, M. (1984) "Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation". *Environ. Exp. Bot.* **24**, 239-245.
- Ronen, R., Canaani, O., Garty, J., Cahen, D., Malkin, S. & Galun, M. (1984) "The effect of air-pollution and bisulfite treatment in the lichen *Ramalina duriaei* studied by photoacoustics". Dans *Advances in Photosynthesis Research* (C. Sybesma, éd.). Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, The Hague, Vol. IV, 3.251-3.254.
- Ronen, R., Canaani, O., Garty, J., Cahen, D., Malkin, S. & Galun, M. (1985) "Photosynthetic parameters in *Ramalina duriaei*, *in vivo*, studied by photoacoustics". Dans *Lichen Physiology and Cell Biology* (D.H. Brown, éd.). Plenum Publishing Corp., pp. 9-22.
- Rosencwaig, A. (1973a) "Photoacoustic spectroscopy of solids". *Opt. Commun.* **7**, 305-308.
- Rosencwaig, A. (1973b) "Photoacoustic spectroscopy of biological materials". *Science (Wash. D. C.)* **181**, 657-658.
- Rosencwaig, A. (1975a) "Photoacoustic spectroscopy. A new tool for investigation of solids". *Anal. Chem.* **47**, 592A-604A.
- Rosencwaig, A. (1975b) "Photoacoustic spectroscopy of solids". *Phys. Today* **28**, 23-30.
- Rosencwaig, A. (1977) "Solid state photoacoustic spectroscopy". Dans *Optoacoustic Spectroscopy and Detection* (Y.-H. Pao, éd.). Academic Press, New York, pp. 193-239.
- Rosencwaig, A. (1978) "Photoacoustic spectroscopy". *Adv. Electron. Electron Phys.* **46**, 207-311.
- Rosencwaig, A. (1980a) "Photoacoustic spectroscopy". *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* **9**, 31-54.
- Rosencwaig, A. (1980b) "*Photoacoustics and Photoacoustic Spectroscopy*". John Wiley & Sons, Inc. New York. *Chemical Analysis* Vol. **57**, 309 pages.
- Rosencwaig, A. & Gersho, A. (1976) "Theory of the photoacoustic effect with solid". *J. Appl. Phys.* **47**, 64-69.
- Roy, G., Robitaille, L. & Gagnon, G. (1985) "Étude des principaux facteurs du dépérissement des érablières au Québec". *Phytoprotection* **66**, 91-99.
- Rühle, W. & Wild, A. (1979) "The intensification of absorbance changes in leaves by light-dispersion differences between high-light and low-light leaves". *Plante (Berl.)* **146**, 551-557.
- Sakaki, T. & Kondo, N. (1985) "Inhibition of photosynthesis by sulfite in mesophyll protoplasts isolated from *Vicia faba* L. in relation to intracellular sulfite accumulation". *Plant Cell Physiol.* **26**, 1045-1055.
- Sakaki, T., Kondo, N. & Sugahara, K. (1983) "Breakdown of photosynthetic pigments and lipids in spinach leaves with ozone fumigation: role of active oxygens". *Physiol. Plant.* **59**, 28-34.

- Sakaki, T., Onishi, J., Kondo, N. & Yamada, M.** (1985) "Polar and neutral lipid changes in spinach leaves with ozone fumigation: triacylglycerol synthesis from polar lipids". *Plant Cell Physiol.* **26**, 2253-2262.
- Salisbury, F.B. & Ross, C.W.** (1992) *Plant Physiology*, 4^e édition, Wadsworth Publishing, 692 pages.
- Sampson, J.** (1961) "A method for replicating dry and moist surfaces for examination by light microscopy". *Nature (Lond.)* **191**, 932-933.
- Samson, P.J.** (1978) "Nocturnal ozone maxima". *Atmos. Environ.* **12**, 951-955.
- Sanders, G.E., Colls, J.J. & Clark, A.G.** (1992) "Physiological changes in *Phaseolus vulgaris* in response to long-term ozone exposure". *Ann. Bot. (Lond.)* **69**, 123-133.
- Sandmann, G. & Böger, P.** (1982) "Volatile hydrocarbons from photosynthetic membranes containing different fatty acids". *Lipids* **17**, 35-41.
- Sandmann, G. & Gonzales, G.H.** (1989) "Peroxidative processes induced in bean leaves by fumigation with sulphur dioxide". *Environ. Pollut.* **56**, 145-154.
- Santos, R. & Miranda, L.C.M.** (1980) "Photoacoustic effect in solids: influence of heat loss". *Appl. Opt.* **19**, 2551-2555.
- Saurer, M., Fuhrer, J. & Siegenthaler, U.** (1991) "Influence of ozone on the stable carbon isotope composition, $\delta^{13}\text{C}$, of leaves and grain of spring wheat (*Triticum aestivum* L.)". *Plant Physiol. (Bethesda)* **97**, 313-316.
- Sawada, T. & Kitamori, T.** (1988) "Analytical applications of photoacoustic spectroscopy to condensed phase matter". *Phys. Acoust.* **18**, 347-401.
- Schmidt, A. & Jäger, K.** (1992) "Open questions about sulfur metabolism in plants". *Annu. Rev. Plant Physiol.* **43**, 325-349.
- Schmidt, W., Schreiber, U. & Urbach, W.** (1988) "SO₂ injury in intact leaves as detected by chlorophyll fluorescence". *Z. Naturforsch. Teil C: Biochem.* **43**, 269-274.
- Schulz, H., Brecht, E. & Machold, O.** (1990) "The chlorophyll-proteins of pine (*Pinus sylvestris* L.) as influenced by SO₂-incubation". *J. Plant Physiol.* **136**, 300-305.
- Schulze, E.-D., Fuchs, M. & Fuchs, M.I.** (1977) "Spatial distribution of photosynthetic capacity and performance in a mountain spruce forest of northern Germany. III. The significance of the evergreen habit". *Oecologia (Berl.)* **30**, 239-248.
- Schütt, P. & Cowling, E.B.** (1985) "Waldsterben, a general decline of forest in central Europe: symptoms, development, and possible causes". *Plant Dis.* **69**, 548-558.
- Schwarz, H.P.** (1988) "Comparative ultrastructural properties of palisade tissue and spongy tissue chloroplasts from normal and mutant leaves of *Pisum sativum* L.". *Plant Cell Environ.* **11**, 99-109.
- Scott, G.W.** (1987) "Acidic precipitation in Ontario study". Ann. Prog. Rep. APIOS #005, Min. Environ, Ontario, 76 pages.
- Sekija, J., Wilson, L.G. & Filner, P.** (1982) "Resistance to injury by SO₂: correlation with its reduction to, and emission of hydrogen sulfide in cucurbitaceae". *Plant Physiol. (Bethesda)* **70**, 437-441.

- Seyfried, M. & Schäfer, E. (1983) "Changes in the optical properties of cotyledons of *Cucurbita pepo* during the first seven days of their development". *Plant Cell Environ.* **6**, 633-640.
- Shafer, S.R., Heagle, A.S. & Camberato, D.M. (1987) "Effects of chronic doses of ozone on field-grown loblolly pine: seedling responses in the first year". *J. Air Pollut. Control Assoc.* **37**, 1179-1184.
- Sharkey, T.D. (1979) "Stomatal responses to light in *Xanthium strumarium* and other species". Thèse de Doctorat, Michigan State University, East Lansing, Michigan.
- Sharkey, T.D. (1985) "Photosynthesis in intact leaves of C₃ plants: physics, physiology and rate limitations". *Bot. Rev.* **51**, 53-105.
- Shimazaki, K. & Sugahara, K. (1979) "Specific inhibition of photosystem II activity in chloroplasts by fumigation of spinach leaves with SO₂". *Plant Cell Physiol.* **20**, 947-955.
- Shimazaki, K., Sakahi, T., Kondo, N. & Sugahara, K. (1980) "Active oxygen participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO₂-fumigated leaves of spinach". *Plant Cell Physiol.* **21**, 1193-1204.
- Shimazaki, K., Nakamachi, K., Kondo, N. & Sugahara, K. (1984a) "Sulfite inhibition of photosystem II in illuminated spinach leaves". *Plant Cell Physiol.* **25**, 337-341.
- Shimazaki, K., Ito, K., Kondo, N. & Sugahara, K. (1984b) "Reversible inhibition of the photosynthetic water splitting enzyme system by SO₂ fumigation assayed by chlorophyll fluorescence and EPR signal *in vivo*". *Plant Cell Physiol.* **25**, 795-803.
- Shoaf, C.R. & Menzel, D.B. (1988) "Oxidative damage and toxicity of environmental pollutants". Dans *Cellular Antioxidant Defense Mechanisms* (C.K. Chow, éd.). CRC Press, Boca Raton, FL, Vol. 1, 197-213.
- Siccama, T.G., Bliss, M. & Vogelmann, H.W. (1982) "Decline of red spruce in the Green Mountains of Vermont". *Bull. Torrey Bot. Club* **109**, 162-168.
- Silvius, J.E., Ingle, M. & Baer, C.H. (1975) "Sulfur dioxide inhibition of photosynthesis in isolated chloroplasts". *Plant Physiol. (Bethesda)* **56**, 434-437.
- Skilling, D.D. (1959) "Maple blight: a new fight". *Am. For.* **65**, 20-21, 53-55.
- Skilling, D.D. (1964) "Ecological factors associated with maple blight". *Univ. Wis. Res. Bull.* **250**, 115-128.
- Skoss, J.D. (1955) "Structure and composition of plant cuticle in relation to environmental factors and permeability". *Bot. Gaz.* **117**, 55-72.
- Slack, E.M. (1974) "Studies of stomatal distribution on the leaves of four apple varieties". *J. Hortic. Sci.* **49**, 95-103.
- Slavík, B. (1963) "The distribution pattern of transpiration rate, water saturation deficit, stomata number and size, photosynthetic and respiration rate in the area of the tobacco leaf blade". *Biol. Plant. (Prague)* **5**, 143-153.
- Smith, G., Neyra, C. & Brennan, E. (1990) "The relationship between foliar injury, nitrogen metabolism, and growth parameters in ozonated soybeans". *Environ. Pollut.* **63**, 79-93.

- Sobrado, M.A. & Medina, E. (1980) "General morphology, anatomical structure, and nutrient content of sclerophyllous leaves of «the Bana» vegetation of Amazonas". *Oecologia (Berl.)* **45**, 341-345.
- Somoano, R.B. (1978) "Photoacoustic spectroscopy of condensed matter". *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **17**, 238-245.
- Spence, R.D., Rykiel, E.J. Jr. & Sharpe, J.H. (1990) "Ozone alters carbon allocation in loblolly pine: assessment with carbon-11 labeling". *Environ. Pollut.* **64**, 93-106.
- Spencer, D.F. & Ksander, G.G. (1987) "Comparison of three methods for extracting chlorophyll from aquatic macrophytes". *J. Freshwater Ecol.* **4**, 201-208.
- Spencer, P.W. & Titus, J.S. (1972) "Biochemical and enzymatic changes in apple leaf tissue during autumnal senescence". *Plant Physiol. (Bethesda)* **49**, 746-750.
- Stace, C.A. (1966) "The use of epidermal characters in phylogenetic considerations". *New Phytol.* **65**, 304-318.
- Stamps, R.H. & Boone, C.C. (1988) "Comparison of nondestructive chlorophyll-sensitive photometer and destructive methods of chlorophyll determination". *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* **101**, 334-335.
- Stegmann, H.B., Ruff, H.J. & Scheffer, K. (1985) "Photosignal II as an indicator for damage to forests - EPR spectroscopic investigation of spruce needles". *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **24**, 425-426.
- Strasser, R.J. & Graf, J.A. (1987) "Fluorescence measurements - A means of early diagnosis of air pollution damages to higher plants Dans 2nd International Symposium on Air pollution and Plant Metabolism, Neuherberg, Germany, pp. 19-26.
- Sunandana, C.S. (1988) "Physical applications of photoacoustic spectroscopy". *Phys. Status Solidi A* **105**, 11-43.
- Sutinen, S. (1987) "Ultrastructure of mesophyll cells of spruce needles exposed to O₃ alone and together with SO₂". *Eur. J. For. Pathol.* **17**, 362-368.
- Sutinen, S., Skärby, L., Wallin, G. & Selldén, G. (1990) "Long-term exposure of Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst., to ozone in open-top chambers. II. Effects on the ultrastructure of needles". *New Phytol.* **115**, 345-355.
- Swanson, E.S., Thomson, W.W. & Mudd, J.B. (1973) "The effect of ozone on leaf cell membranes". *Can. J. Bot.* **51**, 1213-1219.
- Takemoto, B.K. & Noble, R.D. (1982) "The effects of short-term SO₂ fumigation on photosynthesis and respiration in soybean *Glycine max*". *Environ. Pollut. Ser. A Ecol. Biol.* **28**, 67-74.
- Tam, A.C. (1986) "Applications of photoacoustic sensing techniques". *Rev. Mod. Phys.* **58**, 381-431..
- Tamas, I.A. & Bidwell, R.G.S. (1970) "¹⁴CO₂ fixation in leaf discs of *Phaseolus vulgaris*". *Can. J. Bot.* **48**, 1259-1263.
- Taylor, G.E. Jr., Tingey, D.T. & Ratsch, H.C. (1982) "Ozone flux in *Glycine max* (L.) Merr.: sites of regulation and relationship to leaf injury". *Oecologia (Berl.)* **53**, 179-186.
- Taylor, O.C., Dugger, W.M., Jr., Thomas, M.D. & Thompson, C.R. (1961) "Effect of atmospheric

- oxidants on apparent photosynthesis of citrus trees". *Plant Physiol. (Bethesda) Suppl.* **36**, A-XVII.
- Temple, P.J.** (1990) "Growth and yield responses of processing tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars to ozone". *Environ. Exp. Bot.* **30**, 283-291.
- Tenga, A.Z., Marie, B.A. & Ormrod, D.P.** (1990) "Recovery of tomato plants from ozone injury". *HortScience* **25**, 1230-1232.
- Terashima, I. & Inoue, Y.** (1984) "Palisade tissue chloroplasts and spongy tissue chloroplasts in spinach: biochemical and ultrastructural differences". *Plant Cell Physiol.* **26**, 63-75.
- Terashima, I. & Saeki, T.** (1983) "Light environment within a leaf. I. Optical properties of paradermal sections of *Camellia* leaves with special reference to differences in the optical properties of palisade and spongy tissues". *Plant Cell Physiol.* **24**, 1493-1501.
- Terashima, I. & Saeki, T.** (1985) "A new model for leaf photosynthesis incorporating the gradients of light environment and of photosynthetic properties of chloroplasts within a leaf". *Ann. Bot. (Lond.)* **56**, 489-499.
- Têtu, P.** (1988) "Le dépérissement de la forêt québécoise: une menace économique et sociale". Gouvernement du Québec, Ministère de l'Énergie et des Ressources, direction de la recherche et du développement. La foresterie sans détour, série: *conservation des ressources forestières* **2**, 6 pages.
- Thomas, M.D.** (1961) "Effects of air pollution on plants". *Air Pollut. World Health Organ. Monogr. Ser.* **46**, 233-278.
- Thomas, M.D., Hendricks, R.H., Collier, T.R. & Hill, G.R.** (1943) "The utilization of sulfate and sulfur dioxide for the nutrition of alfalfa". *Plant Physiol. (Bethesda)* **18**, 345-371.
- Thomas, M.D., Hendricks, R.H., Bryner, L.C. & Hill, G.R.** (1944) "A study of the sulfur metabolism of wheat, barley and corn using radioactive sulfur". *Plant Physiol. (Bethesda)* **19**, 227-244.
- Thomson, W.W., Dugger, W.M. & Palmer, R.L.** (1966) "Effects of ozone on the fine structure of the palisade parenchyma cells of bean leaves". *Can. J. Bot.* **44**, 1677-1682.
- Thomson, W.W., Nagahashi, J. & Platt, K.** (1974) "Further observations on the effects of ozone on the ultrastructure of leaf tissue". Dans *Air Pollution Effects on Plant Growth* (M. Dugger, éd.). American Chemical Society, Washington, DC.
- Thornton, F.C., Schaedle, M. & Raynal, D.J.** (1986) "Effect of aluminium on the growth of sugar maple in solution culture". *Can. J. For. Res.* **16**, 892-896.
- Tiefenau, H.K., Pruchniewicz, P.G. & Fabian, P.** (1972) "Meridional distribution of tropospheric ozone from measurements aboard commercial airliners". *Z. Geophys.* **38**, 145-151.
- Ting, I.P. & Dugger, W.M. Jr.** (1968) "Factors affecting ozone sensitivity and susceptibility of cotton plants". *J. Air Pollut. Control Assoc.* **18**, 810-813.
- Tingey, D.T. & Hogsett, W.E.** (1985) "Water stress reduces ozone injury via a stomatal mechanism". *Plant Physiol. (Bethesda)* **77**, 944-947.
- Tingey, D.T., Fites, R.C. & Wickliff, C.** (1973) "Foliar sensitivity of soybeans to O₃ as related to several leaf parameters". *Environ. Pollut.* **4**, 183-192.

- Touloukian, Y.S., Powell, R.W., Ho, C.Y. & Nicolaou, M.C. (1973) "*Thermophysical Properties of Matter Volume 10: Thermal Diffusivity*". IFI/Plenum, New York, 690 pages.
- Toupance, G. (1988) "L'ozone dans la basse troposphère. Théorie et Pratique". *Pollut. Atmos.* **117**, 32-42.
- Townsend, A.M. (1974) "Sorption of ozone by nine shade tree species". *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* **99**, 206-208.
- Townsend, A.M. & Dochinger, L.S. (1974) "Relationship of seed source and developmental stage to ozone tolerance of *Acer rubrum* seedlings". *Atmos. Environ.* **8**, 957-964.
- Treshow, M. (1970) "Ozone damage to plants". *Environ. Pollut.* **1**, 155-161.
- Tseng, E.C., Seiler, J.R. & Chevone, B.I. (1988) "Effects of ozone and water stress on greenhouse-grown Fraser fir seedling growth and physiology". *Environ. Exp. Bot.* **28**, 37-41.
- Ulrich, B. & Matzner, E. (1986) "Anthropogenic and natural acidification in terrestrial ecosystems". *Experientia (Basel)* **42**, 344-350.
- Ushijima, T. & Tazaki, T. (1977) "The influence of sulphur dioxide on the photosynthetic and transpiration rate in several higher plants". Dans *Proceedings of the Fourth International Clean Air Congress*, International Union of Air Pollution Prevention Association, Brighton, U.K., pp. 84-87.
- Vaclavik, J. (1984) "Photosynthetic CO₂ uptake by *Zea mays* leaves as influenced by unilateral irradiation of adaxial and abaxial leaf surfaces". *Biol. Plant (Prague)* **26**, 206-214.
- Van Dop, H., Guicherit, R. & Lanting, R.W. (1977) "Some measurements of the vertical distribution of ozone in the atmospheric boundary layer". *Atmos. Environ.* **11**, 65-71.
- Van Doren, B. (1986) "Dépérissement forestier... où est la vérité?". *Bull. Soc. For. Belgique* **93**, 150-160.
- Van Elsacker, P. & Impens, I. (1984) "Photosynthetic performance of poplar leaves at different levels in the canopy. Dans *Advances in Photosynthesis Research* (C. Sybesma, éd.). Vol IV, 129-132.
- Van Staden, J., Webb, D.P. & Wareing, P.F. (1972) "The effect of stratification on endogenous cytokinin levels in seeds of *Acer saccharum*". *Planta (Berlin)* **104**, 110-114.
- Vapaavuori, E., Nurmi, A., Vuorinen, H. & Kangas, T. (1989) "Comparison between the structure and function of chloroplasts at different levels of willow canopy during a growing season". *Ann. Sci. For. (Paris)* **46 suppl.**, 815s-818s
- Veeranjaneyulu, K. & Das, V.S.R. (1982) "Photoacoustic spectroscopy - leaf absorption spectra". *J. Exp. Bot.* **33**, 515-519.
- Veeranjaneyulu, K., Charlebois, D., N'soukpoé-Kossi, C.N. & Leblanc, R.M. (1990) "Effect of sulfur dioxide and sulfite on photochemical energy storage of isolated chloroplasts. A photoacoustic study". *Environ. Pollut.* **65**, 127-139.
- Veeranjaneyulu, K., N'soukpoé-Kossi, C.N. & Leblanc, R.M. (1991a) "Spectral efficiency of *in vivo* photochemical energy storage in SO₂ fumigated sugar maple leaves". *J. Plant Physiol.* **137**, 459-464.

- Veeranjaneyulu, K., N'soukpoé-Kossi, C.N. & Leblanc, R.M.** (1991b) "SO₂ effect on photosynthetic activities of intact sugar maple leaves as detected by photoacoustic spectroscopy". *Plant Physiol. (Bethesda)* **97**, 50-54.
- Veeranjaneyulu, K., Charland, M., Charlebois, D. & Leblanc, R.M.** (1991c) "Photosynthetic energy storage of photosystems I and II in the spectral range of photosynthetically active radiation in intact sugar maple leaves". *Photosynth. Res.* **30**, 131-138.
- Veeranjaneyulu, K., Charland, M., Charlebois, D. & Leblanc, R.M.** (1991d) "Photoacoustic study of changes in the energy storage of photosystems I and II during state 1-state 2 transitions". *Plant Physiol. (Bethesda)* **97**, 330-334.
- Veeranjaneyulu, K., Charlebois, D., N'soukpoé-Kossi, C.N. & Leblanc, R.M.** (1992) "Sulfite inhibition of photochemical activity of intact pea leaves". *Photosynth. Res.* **34**, 271-278.
- Vernon, L.P.** (1960) "Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extracts". *Anal. Chem.* **32**, 1144-1150.
- Vierstra, R.D.** (1993) "Illuminating phytochrome functions. There is light at the end of the tunnel". *Plant Physiol. (Bethesda)* **103**, 679-684.
- Vogelmann, H.W., Badger, G.J., Bliss, M. & Klein, R.M.** (1985) "Forest decline on Camels Hump, Vermont". *Bull. Torrey Bot. Club* **112**, 274-287.
- Vogelmann, T.C.** (1989) "Penetration of light into plants". *Photochem. Photobiol.* **50**, 895-902.
- Vogelmann, T.C., Bornman, J.F. & Josserand, S.** (1989) "Photosynthetic light gradients and spectral regime within leaves of *Medicago sativa*". *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **323**, 411-421.
- Wachsmuth, E.M., Murphy, W.K. & Balwin, R.C.** (1974) "Effect of ozone on tracheid development in the limbs of three conifer species". *Penn. State Univ., School of Forest Research Briefs* **8**, 4-6.
- Wagner, U., Kolbowski, J., Oja, V., Laisk, A. & Heber, U.** (1990) "pH homeostasis of the chloroplast stroma can protect photosynthesis of leaves during the influx of potentially acidic gases". *Biochim. Biophys. Acta* **1016**, 115-120.
- Wainwright, M.** (1978) "Distribution of sulphur oxidation products in soils and on *Acer pseudoplatanus* L. growing close to sources of atmospheric pollution". *Environ. Pollut.* **17**, 153-160.
- Walker, D.** (1992) "Tansley review No. 36: Excited leaves". *New Phytol.* **121**, 325-345.
- Walker, H.M.** (1985) "Ten-year ozone trends in California and Texas". *J. Air Pollut. Control Assoc.* **35**, 903-910.
- Wallin, G., Skärby, L. & Selldén, G.** (1990) "Long-term exposure of Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst., to ozone in open-top chambers. I. Effects on the capacity of net photosynthesis, dark respiration and leaf conductance on shoots of different ages". *New Phytol.* **115**, 335-344.
- Wargo, P.M.** (1972) "Defoliation-induced chemical changes in sugar maple roots stimulate growth of *Armillaria mellea*". *Phytopathology* **62**, 1278-1283.
- Wargo, P.M.** (1977) "Wound closure in sugar maple: adverse effects of defoliation". *Can. J. For. Res.* **7**, 410-414.
- Wargo, P.M.** (1981) "Defoliation, dieback and mortality". Dans *Gypsy Moth: Research Toward*

- Integrated Pest Management. Chapter 5. Effects of defoliation on trees stands.* USDA For. Ser., Washington, D.C. **Tech. Bull. 1584**, 757 pages.
- Wargo, P.M. & Houston, D.R.** (1974) "Infection of defoliated sugar maple trees by *Armillaria mellea*". *Phytopathology* **64**, 817-822.
- Wargo, P.M., Parker, J. & Houston, D.R.** (1972) "Starch content in roots in defoliated sugar maple". *For. Sci.* **18**, 203-204.
- Webb, D.P.** (1974) "Germination control of stratified sugar maple seeds". *For. Chron.* **50**, 1-2.
- Webb, D.P. & Dumbroff, E.B.** (1969) "Factors influencing the stratification process in seeds of *Acer saccharum*". *Can. J. Bot.* **47**, 1555-1563.
- Weber, J.A., Jurik, T.W., Tenhunen, J.D. & Gates, D.M.** (1985) "Analysis of gas exchange in seedlings of *Acer saccharum*: integration of field and laboratory studies". *Oecologia (Berl.)* **65**, 338-347.
- Weigel, H.J., Adaros, G. & Jäger, H.J.** (1990) "Yield responses of different crop species to long-term fumigation with sulphur dioxide in open-top chamber". *Environ. Pollut.* **67**, 15-28.
- Weinstein, L.H. & McCune, D.C.** (1970) "Field surveys, vegetation sampling, and air and vegetation monitoring". Dans *Recognition of Air Pollution Injury to Vegetation: a Pictorial Atlas* (J.S. Jacobson & A.C. Hill, eds.). Air Pollution Control Association, Pittsburg, PA, pp. G1-G4.
- Weinstock, L., Kender, W.J. & Musselman, R.C.** (1982) "Microclimate within open-top air pollution chambers and its relation to grapevine physiology". *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* **107**, 923-929.
- Wellburn, A.R.** (1982) "Effects of SO₂ and NO₂ on metabolic function". Dans *Effects of Gaseous Air Pollution in Agriculture and Horticulture* (M.H. Unsworth & D.P. Ormrod, eds.). Butterworth Scientific, London, pp. 169-188.
- Wellburn, A.R.** (1985) "SO₂ effects on stromal and thylakoid function". Dans *Sulfur Dioxide and Vegetation* (H.A. Mooney & R.A. Goldstein, eds.). Stanford University Press, Stanford, pp. 133-137.
- Westing, A.H.** (1966) "Sugar maple decline: an evaluation". *Econ. Bot.* **20**, 196-212.
- White, R.C., Jones, I.D. & Gibbs, E.** (1960) "Determination of chlorophylls, chlorophyllides, pheophytines, and pheophorbides in plants materials". *J. Food Sci.* **28**, 431-436.
- Wilhour, R.G.** (1970) "The influence of temperature and relative humidity on the response of white ash to ozone". *Phytopathology* **60**, 579.
- Wilson, G.B. & Bell, J.N.B.** (1990) "Studies on the tolerance to sulphur dioxide of grass populations in polluted areas. VI. The genetic nature of tolerance in *Lolium perenne* L.". *New Phytol.* **116**, 313-317.
- Wilson, L.G., Bressan, R.A. & Filner, P.** (1978) "Light-dependent emission of hydrogen sulfide from plants". *Plant Physiol. (Bethesda)* **61**, 184-189.
- Wilson, S.A. & Murray, F.** (1990) "SO₂-induced growth reductions and sulphur accumulation in wheat". *Environ. Pollut.* **66**, 179-191.
- Winner, W.E. & Mooney, H.A.** (1980) "Ecology of SO₂ resistance: III. Metabolic changes of C₃ and C₄ *Atriplex* species due to SO₂ fumigation". *Oecologia (Berl.)* **44**, 49-54.

- Wintermans, J.F.G.M. (1969) "Comparative chlorophyll determinations by spectrophotometry of leaf extracts in different solvents". *Photosynthetica (Prague)* **3**, 112-119.
- Wintermans, J.F.G.M. & De Mots A. (1965) "Spectrophotometric characteristics of chlorophylls *a* and *b* and their pheophytins in ethanol". *Biochim. Biophys. Acta* **109**, 448-453.
- Wiselogle, A.E., Bailey, J.K., Newton, R.J. & Fong, F. (1991) "Growth response of loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seedlings to ozone fumigation". *Environ. Pollut.* **71**, 43-56.
- Wisse, J.A. & Velds, C.A. (1970) "Preliminary discussion on some oxidants measurements at Vlaardingen. The Netherlands". *Atmos. Environ.* **4**, 79-85.
- Witkowski, E.T.F. & Lamont B.B. (1991) "Leaf specific mass confounds leaf density and thickness". *Oecologia (Berl.)* **88**, 486-493.
- Wolfenden, J. & Wellburn, A.R. (1991) "Effects of summer ozone on membrane lipid composition during subsequent frost hardening in Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst]". *New Phytol.* **118**, 323-329.
- Wood, F.A. (1970) "The relative sensitivity of sixteen deciduous tree species to ozone". *Phytopathology* **60**, 579-580.
- Wood, F.A. & Davis, D.D (1969) "Sensitivity of various deciduous tree species to ozone and sulfur dioxide". *Phytopathology* **59**, 129-136.
- Woolley, J.T. (1971) "Reflectance and transmittance of light by leaves". *Plant Physiol. (Bethesda)* **47**, 656-662.
- Wuenschel, J.E. & Kozlowski, T.T. (1970) "Carbon dioxide transfer resistance as a factor in shade tolerance of tree seedlings". *Can. J. Bot.* **48**, 453-456.
- Yadava, U.L. (1986) "A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves". *HortScience* **21**, 1449-1450.
- Yamauchi, M., Choi, W.K. & Yamada, Y. (1983) "Sulphur dioxide inhibition of photosynthesis at different CO₂ and O₂ concentrations in relation to photorespiration". *Soil Sci. Plant Nutr.* **29**, 533-541.
- Yang, Y.S., Skelly, J.M., Chevone, B.I. & Birch, J.B. (1983a) "Effects of short-term ozone exposure on net photosynthesis, dark respiration, and transpiration of three eastern white pine clones". *Environ. Int.* **9**, 265-269.
- Yang, Y.S., Skelly, J.M., Chevone, B.I. & Birch, J.B. (1983b) "Effects of long-term ozone exposure on photosynthesis and dark respiration of eastern white pine". *Environ. Sci. Technol.* **17**, 371-373.
- Yawney, H.W. & Carl, C.M. Jr. (1969) "Sugar maple seed research". Dans *1948-1968: 20 years of nursery progress. Proceedings of the Northeastern Area 20th Anniversary of the Nurserymen's Conference*, September 11-12, U.S. Department of Agriculture, Northeastern Area State and Private Forests, 115-124.
- Yawney, H.W. & Carl, C.M. Jr. (1974) "Storage requirements for sugar maple seeds". *USDA Forest Serv. Res. Pap.* NE-298, Northeastern Forest Experimental Station, Upper Darby, PA, 7 pages.
- Zabel, R.A., Silverborg, S.B. & Fowler, M.E. (1958) "A survey of forest tree diseases in the northeast - 1957". *USDA For. Serv. Pap.* **110**, Northeast Forest Experimental Station, 30 pages.

- Ziegler, I. & Libera, W.** (1975) "The enhancement of CO₂ fixation in isolated chloroplasts by low sulfite concentrations and by ascorbate". *Z. Naturforsch. Teil C Biochem.* **30**, 634-637.
- Ziegler, I., Marewa, A. & Schoepe, E.** (1976) "Action of sulfite on the substrate kinetics of chloroplastic NADP-dependent glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase". *Phytochemistry* **15**, 1627-1632.
- Zimmerman, P.W. & Croker, W.** (1934) "Toxicity of air containing sulfur dioxide gaz". *Contrib. Boyce Thompson Inst.* **6**, 455-470.
- Zscheile, F.P.** (1941) "Plastid pigments with special reference to their physical and photochemical properties and to analytical methods". *Bot. Rev.* **7**, 587-648.
- Zscheile, F.P. & Comar, C.L.** (1941) "Influence of preparative procedure on the purity of chlorophyll components as shown by absorption spectra". *Bot. Gaz.* **102**, 463-481.

NOTE

Les abréviations des journaux cités en références sont conformes à celles décrites dans les ouvrages suivants:

Anonyme (1990) *Chemical Abstracts Service Source Index, 1907-1989 Cumulative, Part I, A-G; Part 2, H-O; Part 3, P-Z*, Chemical Abstract Services, American Chemical Society, OH, 3551 pages.

Anonyme (1991) *Serial Sources for the Biosis Data Base*, Biosis, PA, 421 pages.

ANNEXE I

CHAMBRE DE FUMIGATION

A) Problématique

Le travail proposé reposait sur la possibilité d'effectuer des fumigations en chambre. Lors de la conception de notre chambre de fumigation, nous devons tenir comptes des points suivants: 1- dimensions; 2- accessibilité; 3- répartition des gaz; 4- système de filtration; et 5- uniformité de l'éclairage et valeur de l'intensité lumineuse. La répartition uniforme des gaz dans la chambre revêt une importance particulière puisque l'existence d'un gradient de concentration du polluant étudié risque de biaiser les résultats. Enfin, il importe de disposer d'unités de filtration efficaces de façon à introduire de l'air dépourvu de polluant lors des fumigations de contrôle (unité de filtration d'entrée), et afin de neutraliser les polluants avant leur évacuation dans l'environnement (unité de filtration de sortie). Cette annexe est consacrée à la description des caractéristiques techniques et des performances de cette chambre.

B) Matériel et méthodes

Les fumigations au laboratoire ont été effectuées dans une chambre rectangulaire de 0.9 m³ (0.76 m de largeur, 0.76 m de profondeur et 1.55 m de hauteur) munie d'une unité de filtration en tôle galvanisée à l'entrée et d'une à la sortie. De la Mélamine blanche recouvre les parois internes de la chambre assurant ainsi une bonne diffusion de la lumière et une protection efficace contre le potentiel élevé d'oxydation des gaz utilisés.

Les deux unités, d'une surface frontale de 0.36 m², logent chacune deux filtres de 2.5 cm d'épaisseur. Le premier de ces filtres contient du charbon actif (#84, Farr Inc., Laval, QC) utilisé pour son pouvoir d'adsorption de l'ozone. Comme le pouvoir de neutralisation du bioxyde de soufre par le charbon actif est négligeable, nous avons utilisé un second filtre contenant des particules sphériques d'alumine imprégnées de permanganate de potassium (KMnO₄; Unisorb Mark 2, Unisorb Corp., Houston, TX) très efficace pour éliminer le bioxyde de soufre. Selon les fabricants, l'influence de ces deux filtres actifs sur la concentration en bioxyde de carbone serait pratiquement inexistante. Afin d'éliminer les poussières, l'unité d'entrée possède en plus un filtre à élément plissé de 5.0 cm d'épaisseur (Farr Inc., Laval, QC) localisé à l'avant des deux filtres actifs, ce qui en prolonge la durée d'utilisation.

L'ozone, produit par le passage d'air sec¹ dans un ozonateur à décharge électrique (modèle O3V9-AR; Ozone Research & Equipment Corp., Phoenix, AR), est mélangé à de l'air filtré au niveau de la portion terminale de l'unité de filtration d'entrée. La concentration d'ozone peut être variée en contrôlant le débit d'air passant dans l'ozonateur et/ou la tension appliquée à l'électrode. Bien que nous y n'ayons pas eu recours, une autre alternative consiste à varier la vitesse du ventilateur de la chambre de fumigation et, par le fait même, le facteur de dilution de l'ozone. Le générateur utilise deux colonnes internes d'assèchement qui fonctionnent en alternance ce qui occasionne une variation dans la quantité d'ozone produite.

L'introduction, dans la chambre, de l'air filtré ou du mélange gazeux se fait par deux tuyaux flexibles (10 cm de diamètre) entre deux plaques de Plexiglas. Ces tuyaux sont issus de la portion terminale de l'unité de filtration d'entrée, juste après le point d'injection des polluants gazeux, et se fixent de chaque côté de la partie supérieure de la chambre. La

1 Le passage de l'air ambiant sur une colonne contenant un dessicant (Drierite, W.A. Hammond Drierite Corp., Xenia, OH) donne d'excellents résultats.

première plaque de Plexiglas confère une bonne étanchéité à la chambre tout en permettant le libre passage de la lumière. Deux lampes, similaires à celles utilisées dans la chambre de croissance, sont suspendues à 40 cm au-dessus de la chambre de fumigation et peuvent être utilisées indépendamment. La seconde plaque de Plexiglass, située à 11.0 cm de la première, possède des perforations de 2.0 cm équidistantes (6.5 cm centre-centre) à l'exception d'une portion de 550 cm² située en son centre. Une plaque similaire, située à 8.0 cm du fond de la chambre, sert de faux-plancher.

Ce dispositif de plaques perforées combiné à un ventilateur du type cage à écureuil (modèle D530, Delhi Industries, Delhi, ON) devrait assurer une distribution uniforme des gaz et permet leur évacuation. À plein régime, le renouvellement de l'air devrait se faire à toutes les 8 à 10 s. Situé à la sortie de la chambre, le ventilateur crée un vide partiel très léger qui élimine pratiquement toutes fuites de polluants dans la salle de travail. Au sortir de la chambre, les gaz sont neutralisés par la seconde unité de filtration avant d'être évacués vers l'extérieur.

La concentration d'ozone à l'intérieur de la chambre de fumigation était continuellement mesurée au moyen d'un analyseur photométrique (modèle 8810; Monitor Laboratories Inc., San-Diego, CA) calibré par le fabricant et relié à une table enregistreuse (modèle OmniScribe B5117-5I; Houston Instrument, Austin, TX). Un tube de Teflon (0.5 cm diamètre interne), situé sur la face avant à 20 cm du haut de la chambre et s'étendant jusqu'en son centre, permet le prélèvement des gaz pour fins d'analyses par le moniteur d'ozone. Par la suite, les gaz sont retournés entre le ventilateur et l'unité de filtration de sortie.

Dans la cas des fumigations au bioxyde de soufre, le gaz provenait d'un cylindre (Union Carbide, Montréal, QC) avant d'être mélangé, à de l'air filtré, dans la portion terminale de

l'unité de filtration d'entrée. Puisque le fournisseur donnait la concentration précise en SO_2 et que la stabilité du gaz est bonne, il nous suffisait de contrôler le débit du gaz provenant du cylindre pour obtenir la concentration désirée. Des cylindres contenant du bioxyde de soufre à 10, 100 et 1000 ppb ont été utilisés. Le dosage de ce gaz se fait au moyen d'un détecteur à tube colorimétrique (modèle 8014KA-400A, Matheson-Kitagawa, Matheson, Whitby, ON). Ce type de détecteur ne permet que la prise de mesures ponctuelles. Néanmoins, des mesures effectuées à divers moments au cours des fumigations ont révélé que la concentration de bioxyde de soufre est demeurée constante.

L'air, le bioxyde de soufre de même que l'ozone étant invisibles, nous avons eu recours à la méthode suivante afin de vérifier la répartition des gaz dans la chambre. Nous avons introduit, entre les filtres et le point de jonction des tuyaux d'évacuation de l'unité de filtration d'entrée, un bécher contenant de l'acide chlorhydrique (HCl) et un second contenant de l'ammoniaque (NH_3). La réaction des vapeurs provenant des deux liquides conduit à la formation de chlorure d'ammonium sous forme d'une fumée blanche visible à l'oeil nu. Nous avons donc observé, du haut de la chambre et par la porte, la distribution de cette fumée dans des conditions expérimentales comparables à celles prévalant lors des fumigations.

C) Résultats et Discussion

Les dimensions minimales de la chambre nous étaient dictées par notre intention de fumer simultanément cinq sauvageons âgés entre 5 et 7 ans. Il fallait cependant se garder de surdimensionner inutilement la chambre sous peine d'avoir des problèmes au niveau de l'uniformité dans la répartition des gaz. Les dimensions retenues constituent un compromis acceptable.

L'accessibilité fait référence à la facilité d'introduction des plantes dans la chambre. Nous avons donc muni la chambre d'une large porte en verre qui permet l'introduction facile des plantes et leur observation durant le traitement. Dans l'ensemble, la chambre de fumigation s'est avérée bien adaptée à nos besoins. L'introduction de plantules ne cause pas de problème la surface disponible suffit pour traiter simultanément plus de 30 semis ou 5 sauvageons.

Selon nos observations, nous pouvons affirmer que notre dispositif (plaques perforées - ventilateur) permet un bon mélange des gaz et leur répartition uniforme dans l'ensemble de la chambre. Une méthode alternative pour évaluer l'uniformité de la répartition des gaz aurait été d'échantillonner à diverses positions en déplaçant le tube de Teflon relié à l'analyseur d'ozone. Nous avons renoncé à cette méthode étant donné l'instabilité du générateur d'ozone. L'acquisition d'un analyseur de bioxyde de soufre devrait résoudre ce problème puisque la concentration du SO_2 , provenant des cylindres, démontre une grande stabilité temporelle.

Nous mentionnions que le ventilateur devrait permettre de renouveler l'air de la chambre entre 8 et 10 s. Nous avons observé qu'il fallait entre 3.5 et 4 min pour éliminer 500 à 580 ppb d'ozone présent dans la chambre. Cette différence tient probablement des effets combinés des turbulences dans la chambre et du temps de réaction de l'analyseur d'ozone. Le temps réel de renouvellement se situe probablement entre 3 et 3.5 min. Le même temps est requis pour passer de 0 à 500 ppb avec notre générateur d'ozone.

En dépit de nos efforts, l'ozonateur s'est avéré particulièrement sensible aux variations de l'humidité de l'air. Ainsi, des variations de l'ordre de 5 à 10%, avec des pics occasionnels de 15%, ont été observées, l'amplitude de ces variations étant fonction de la concentration

recherchée. Pour ces raisons, les concentrations indiquées dans la thèse représentent des valeurs moyennes pour la durée complète de la fumigation.

La qualité ainsi que la quantité de lumière constituent deux autres paramètres importants. Les deux lampes suspendues au-dessus de la chambre sont du même type que celles utilisées dans la chambre de croissance assurant ainsi une similarité au niveau de la qualité de la lumière. Les deux plaques de Plexiglas, que doit traverser la lumière avant de rejoindre les plantes, peuvent être considérées transparentes aux radiations actives photosynthétiquement.

Le revêtement intérieur de la chambre de fumigation assure une bonne diffusion de la lumière. Cependant, nous devons considérer les lampes comme des sources ponctuelles. Pour cette raison, nous avons mesuré l'intensité lumineuse à différentes positions (tableaux 23, 24 et 25). Les tableaux 23 (une seule lampe) et 24 (deux lampes) contiennent les valeurs de l'intensité lumineuse, exprimées en pourcentage de l'intensité moyenne mesurée à un niveau donné.

Nous pouvons constater, qu'à l'exception des coins de la chambre, la lumière présente une distribution relativement uniforme pour une surface déterminée. Cependant, les mesures effectuées au niveau du plafond, donc très près des lampes, démontrent un gradient important (tableaux 23D et 24D), particulièrement lorsqu'une seule lampe est utilisée (tableau 23D). Bien que le feuillage des sauvageons se situait entre 50 et 100 cm du fond de la chambre, nous pouvons assumer que les feuilles situées à une même hauteur ont été exposées à une intensité lumineuse comparable, dont les valeurs sont présentées au tableau 25. Ce problème de la distribution de la lumière en fonction de la hauteur ne se pose pas avec les semis. En effet, le feuillage de ces derniers se distribue sur moins de 10 cm, distance pour laquelle nous pouvons négliger les différences d'intensité lumineuse.

Tableau 23

Répartition de la lumière à différentes positions à l'intérieur de la chambre de fumigation exprimée en pourcentage de l'intensité moyenne: une seule lampe
A) au niveau du plancher

coin arrière		25 cm		50 cm	
	87		99		93
25 cm		99		103	
	99		103		101
50 cm		100		113	
	101		107		96

B) à 50 cm du plancher

coin arrière		25 cm		50 cm	
	84		100		104
25 cm		100		111	
	97		111		108
50 cm		110		117	
	82		90		86

Tableau 23 (suite)

C) à 100 cm du plancher

coin arrière		25 cm		50 cm	
	59		90		104
25 cm		88		99	
	79		109		115
50 cm		106		118	
	98		102		117

D) au niveau du plafond

coin arrière		25 cm		50 cm	
	28		64		79
25 cm		59		115	
	37		106		152
50 cm		94		154	
	81		153		182

Tableau 24

Répartition de la lumière à différentes positions à l'intérieur de la chambre de fumigation exprimée en pourcentage de l'intensité moyenne: deux lampes
A) au niveau du plancher

coin arrière		25 cm		50 cm	
	107		97		97
25 cm		98		103	
	96		103		97
50 cm		99		102	
	99		104		96

B) à 50 cm du plancher

coin arrière		25 cm		50 cm	
	87		107		107
25 cm		100		112	
	100		113		107
50 cm		107		100	
	85		89		85

Tableau 24 (suite)

C) à 100 cm du plancher

coin arrière		25 cm		50 cm	
	72		114		116
25 cm		93		103	
	89		99		104
50 cm		105		104	
	92		109		98

D) au niveau du plafond

coin arrière		25 cm		50 cm	
	39		114		133
25 cm		98		123	
	56		119		108
50 cm		93		111	
	78		113		115

Tableau 25

Valeur des intensités lumineuses moyennes¹ à diverses hauteurs
à l'intérieur de la chambre fumigation en fonction du nombre de lampes

Une seule lampe			Deux lampes		
Hauteur des mesures (cm)	Intensité moyenne ($\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$)	Coefficient de variation (%)	Hauteur des mesures (cm)	Intensité moyenne ($\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$)	Coefficient de variation (%)
0	67	6.6	0	156	3.4
50	84	11.5	50	215	5.0
100	148	17.7	100	369	11.5
150	243	48.5	150	609	27.4

1 Moyennes basées sur 13 mesures effectuées sur l'ensemble de la surface de la chambre tel qu'indiqué aux tableaux 16 et 17.

Nous devons signaler que le type de détecteur utilisé, pour effectuer les mesures d'intensité lumineuse dans la chambre de fumigation, tient compte de la lumière incidente mais néglige une fraction indéterminée de la lumière réfléchie par les murs. De plus, nous n'avons pas considéré l'effet de recouvrement des feuilles. Il faut donc utiliser avec discernement les valeurs présentées au tableau 25. Cet effet de recouvrement, dont nous venons de faire mention, de même que l'influence de l'intensité lumineuse sur la toxicité des polluants gazeux ont possiblement contribué à la variabilité des résultats observée en SPA.

Selon le fabricant, le charbon actif n'est pas adapté pour éliminer le bioxyde de soufre et les oxydes d'azote. De plus, son rendement ne serait pas de 100% pour la neutralisation de l'ozone. Cependant, les mesures de contrôle effectuées dans notre chambre n'ont révélé que des traces d'ozone et de bioxyde de soufre. Des concentrations, inférieures à 5 ppb et souvent à la limite de précision des analyseurs, témoignent de la grande efficacité du filtre au charbon actif pour la neutralisation de l'ozone, et du filtre contenant les sphères imprégnées de permanganate de potassium pour la neutralisation du bioxyde de soufre. Les performances de la chambre de fumigation témoignent du succès de sa conception. Cependant, il faut garder à l'esprit que les conditions qui y prévalent sont artificielles et que la durée du traitement ne représente qu'une fraction de la durée de vie de la plante.

D) Conclusion

Les performances de notre chambre de fumigations se sont révélées satisfaisantes. Nous recommandons néanmoins la relocalisation de la chambre ou la mise en place d'un système permettant de contrôler la température de même que l'humidité. Ces modifications devraient assurer une meilleure stabilité de ces deux paramètres durant les fumigations et entre celles-ci.

ANNEXE II

PRODUCTION DE SEMIS D'ÉRABLE À SUCRE À PARTIR DE GRAINES

A) Problématique

Le littérature fait mention de différences, en fonction de l'âge, dans la réponse des plantes exposées aux polluants gazeux. Il s'avère donc intéressant de mesurer les effets d'une fumigation à l'ozone ou au bioxyde de soufre sur des plantes d'âges différents. Des sauvageons âgés entre 5 et 7 ans constituaient un des groupes utilisés. Cependant, il nous était impossible d'utiliser ces sauvageons durant plus de 4 mois, période durant laquelle les feuilles présentent une certaine stabilité morphologique et physiologique.

La production de semis à partir de graines allait nous permettre, d'une part, d'obtenir des plantules d'un groupe d'âges différent de celui des sauvageons et, d'autre part, d'avoir à notre disposition du matériel végétal durant l'année entière. Nous avons donc entrepris la mise au point d'une méthode de stratification satisfaisante des graines d'érable à sucre.

B) Matériel et méthodes

Des graines d'érable à sucre ont été obtenues du Centre national de graines d'arbres de Petawawa (Institut Forestier National de Petawawa, Chalk River, ON). Ces graines subissent

une séparation au n-pentane avant leur entreposage. Cette méthode de séparation, très efficace (Carl & Yawney, 1969; Yawney & Carl, 1969), permet de repérer et d'éliminer les graines vides, plutôt abondantes (jusqu'à 50%) chez cette espèce (Nordine, 1952).

Suivant des indications fournies par N. Brassard, de l'Institut Armand Frappier, nous avons procédé à une série d'essais de stratification. Selon cette première méthode, il fallait: 1- faire tremper les graines; 2- enlever leur péricarpe; 3- les stériliser en surface en les faisant tremper dans une solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 ; 3 à 10%); 4- poursuivre tel qu'indiqué plus loin.

L'étape 2 offre l'avantage d'éliminer les graines vides et celles d'aspect douteux. Cependant, la séparation au n-pentane permet d'éliminer virtuellement toutes les graines vides. Nos observations permettent d'évaluer à plus de 95% le taux de séparation. L'enlèvement du péricarpe demeure un travail fastidieux qui mérite d'être effectué qu'à la condition d'obtenir un très bon taux de germination et un faible taux de contamination.

Le taux de germination obtenu avec cette méthode, jamais supérieur à 70%, ne nous apparaît pas satisfaisant puisqu'un nombre appréciable de graines succombaient à la putréfaction ou aux contaminations fongiques. À ce sujet, la stérilisation au H_2O_2 nous est apparue une étape critique. Une stérilisation trop courte se traduisant par une contamination excessive des graines alors qu'une stérilisation trop longue en provoquait la mort.

Devant l'inconvénient que constitue l'enlèvement du péricarpe, le taux de germination peu élevé et la contamination des graines, nous avons recherché un meilleur protocole. Afin de lever la dormance, très profonde chez l'érable à sucre (Webb & Dumbroff, 1969; Janerette, 1979b), des graines emballées dans une pièce de coton sont mises à tremper sans agitation,

pour une période de 10 à 14 jours à $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$, à l'obscurité (Janerette 1979a, b) dans un volume d'eau distillée (Janerette, 1979b) qui représente 2 à 3 fois celui des graines. L'eau distillée donnerait un taux de germination supérieur à celui obtenu avec l'eau du robinet (Janerette, 1977a, 1979a).

À tous les jours, le ballot de graines est rincé abondamment à l'eau courante et l'eau de trempage renouvelée afin d'éliminer d'éventuelles substances inhibitrices ayant diffusées des graines (Janerette, 1977b, 1979a). D'ailleurs, l'eau prend une coloration brunâtre évidente pendant toute la durée du trempage. Cette coloration provient vraisemblablement des composés phénoliques, abondants dans le péricarpe de ces graines (Enu-Kwesi & Dumbroff, 1980). Nous n'avons cependant pas cherché à identifier le ou les composés présents dans l'eau de trempage.

La température choisie semble la plus propice pour cette étape de la stratification (Webb & Dumbroff, 1969; Webb, 1974; Janerette, 1979a). De plus, les conditions d'anaérobiose partielle qui prévalent pendant le trempage favoriseraient la levée de la dormance (Janerette, 1979a). Non seulement le trempage réduirait considérablement la période de stratification (Webb & Dumbroff, 1969; Webb, 1974; Janerette, 1979a), de plus il donnerait des résultats optimaux avec *Acer saccharum* (Janerette, 1979b, c). Les graines non utilisées pour la stratification sont entreposées au réfrigérateur (4°C) dans un contenant étanche à l'abri de l'humidité. Ces conditions permettent un entreposage prolongé des graines sans perte appréciable de viabilité et de vitalité (Yawney & Carl, 1974).

À la fin de la période de trempage, les graines sont étalées sur un lit de sable de quartz (≈ 4 cm de profondeur) préalablement stérilisé et humidifié. Bien que d'autres milieux de stratification donnent d'aussi bons résultats (Carl & Yawney, 1966), la disponibilité et la facilité d'utilisation du sable (lavage, stérilisation et manipulation) justifient notre choix. Les

plateaux à germination (26 cm x 52 cm) munis de couvercle, utilisés pour la suite du processus de stratification, sont stérilisés en surface au moyen d'une solution diluée d'hypochlorite de calcium puis rincés à fond à l'eau courante.

Ces plateaux peuvent contenir jusqu'à 300 graines sans qu'elles ne se touchent. Un trop grand nombre de graines augmente les risques de contamination massive. De plus, il provoque un enchevêtrement des racines qui complique le transfert en pot. Un fongicide systémique (Benomyl, Wilson's Laboratories, Dundas, ON), sous forme de poudre mouillable (5 mL·L⁻¹), est appliqué au moyen d'un atomiseur en quantité suffisante pour mouiller toutes les graines avant leur entreposage dans la chambre froide ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$) à l'obscurité.

Après une période minimale d'environ 35 à 40 jours, la germination est suffisamment avancée pour effectuer les premières transplantations. Cette période peut s'étendre de 60 à 90 jours si le trempage des graines ne dure que 24 h (Carl & Yawney, 1966). Seules les graines pourvues d'une racine dont la longueur varie entre 3 à 10 cm sont utilisées.

À partir de ce moment, un prélèvement périodique des graines germées est effectué en prenant soin de retourner les plateaux de germination à la chambre froide. Du fongicide est occasionnellement appliqué et les graines présentant des signes évidents de contamination ou de putréfaction sont éliminées. L'absence de synchronisme dans la germination nous a forcé à poursuivre la stratification pour une période maximale de 90 jours. Cette période correspond à l'achèvement du processus de germination pour l'érable à sucre (Carl & Yawney, 1966).

Les semis sont transplantés dans des pots de 64 cm² (6 cm de profondeur) contenant un mélange de terre organique : tourbe de sphagne : vermiculite : sable (2:1:1:0.5 par volume). Finalement, nous les plaçons dans une chambre de croissance jusqu'au moment de

leur utilisation. Lors du transfert en chambre de croissance, une thermopériode de 30/20°C (jour/nuit) est recommandée (Anonyme, 1948). Ces conditions ne pouvant être obtenues dans notre chambre, une température fixe d'environ 20°C fut sélectionnée.

Les conditions suivantes prévalaient dans la chambre de croissance: une photopériode de 14 h (10 h d'obscurité), une intensité lumineuse au niveau du feuillage¹ de $15 \pm 5 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$, une température de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ et une humidité relative de $55 \pm 5\%$. La température ainsi que l'humidité relative étaient enregistrées continuellement au moyen d'un hygrothermographe à tambour (modèle 8369; Cole-Palmer Instrument Co., Chicago, IL).

Des lampes au sodium à haute pression (Lumalux LU400, GTE Sylvania, ON) fournissaient l'éclairage de la chambre de croissance. Afin de minimiser les effets potentiels des différences dans les conditions environnementales dans la chambre de croissance, les plantules sont déplacées aléatoirement de temps à autre.

Les semis étaient arrosés trois fois par semaine avec une solution nutritive complète (Erdmann *et al.*, 1979). Le pH de cette solution varie entre 4.5 et 5.0 lors de la préparation mais est ajusté à 5.6, ce qui correspond au pH de l'eau en équilibre avec le bioxyde de carbone atmosphérique (Ulrich & Matzner, 1986). Le tableau 26 présente la composition de la solution d'arrosage complète et le tableau 27 présente la source des composés utilisés pour sa préparation. De l'engrais de croissance pour jeunes plants forestiers (N-P-K, 11%, 41% et 8% respectivement; Plant Products Company Ltd., Bramalea, ON) est ajouté à la solution d'arrosage une fois par mois selon les recommandations du fabricant.

1 Cette intensité lumineuse correspond à environ $75 \pm 25 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ de radiations actives photosynthétiquement.

Tableau 26

Composition de la solution d'arrosage

MACRO-ÉLÉMENTS		
COMPOSÉ OU SEL	MASSE MOLAIRE (g)	CONCENTRATION FINALE (M)
KNO ₃	101.10	2 x 10 ⁻³
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	236.15	3 x 10 ⁻³
MgSO ₄ ·7H ₂ O	246.48	2 x 10 ⁻³
KH ₂ PO ₄	136.09	2 x 10 ⁻³
MICRO-ÉLÉMENTS		
COMPOSÉ OU SEL	MASSE MOLAIRE (g)	CONCENTRATION FINALE (M)
FeNa-EDTA	367.05	89 x 10 ⁻⁶
H ₃ BO ₃	61.83	37 x 10 ⁻⁶
MnCl ₂ ·4H ₂ O	197.91	7 x 10 ⁻⁶
ZnCl ₂	136.28	7 x 10 ⁻⁷
CuCl ₂ ·2H ₂ O	170.48	3 x 10 ⁻⁷
MoO ₃	143.94	3 x 10 ⁻⁷

(D'après Erdmann *et al.*, 1979)

Tableau 27

Provenance des composantes de la solution d'arrosage

MACRO-ÉLÉMENTS	
COMPOSÉ OU SEL	SOURCE
KNO_3	Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Aldrich Chemical Co., Inc., Milwaukee, WI
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ
KH_2PO_4	Anachemia, Montréal, QC
MICRO-ÉLÉMENTS	
COMPOSÉ OU SEL	SOURCE
FeNa-EDTA	J.T. Baker, Phillipsburg, NJ
H_3BO_3	Mallinckrodt, Paris, KC
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ
ZnCl_2	Aldrich Chemical Co., Inc., Milwaukee, WI
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ
MoO_3	Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ

C) Résultats

La période initiale de trempage peut varier de 10 à 20 jours sans modifier de façon évidente la germination des graines. La température semble cependant avoir un effet déterminant sur le processus de stratification. En effet, nous avons observé une réduction du taux et de la précocité de germination des graines lorsque le plateau était situé dans une région de la chambre présentant une température légèrement supérieure à 5°C.

L'utilisation du fongicide, au début de la période de stratification et lors du transfert en terre, a permis de réduire considérablement la contamination des graines. Notre protocole nous permet d'obtenir un taux de germination variant entre 75 et 85%. Ce pourcentage exclus les graines germées présentant des signes de contamination. Ce taux se compare avantageusement à celui obtenu par le fournisseur de graines (36%) et celui obtenu avec notre première méthode.

Les choses se compliquent lors du transfert en terre. Plusieurs graines ne dépassaient pas le stade cotylédonnaire et mourraient avant l'émergence des feuilles. D'autres semis périssaient entre le moment du transfert en terre et la pleine expansion des premières feuilles. Cette étape s'avère donc la plus limitative car seulement 10 à 20% des graines ont survécu plus d'un mois. Le nombre de semis obtenu suffisait cependant pour nos besoins.

D) Discussion

La dormance particulièrement profonde des graines d'érable à sucre (Webb & Dumbroff, 1969) et notre besoin d'un nombre important de semis a justifié nos efforts pour mettre au point un protocole de stratification. Bien que la littérature contient un nombre important

d'informations sur les processus de stratification et de germination des graines d'érable à sucre, la production massive de semis sains et viables n'est pas évidente. En effet, plusieurs tentatives se sont soldées par un échec ou un succès mitigé (N. Brassard, Institut Armand Frappier et M. Bettez, Pépinière Expérimentale de Berthierville, communications personnelles).

Selon Webb & Dumbroff (1969), les téguments (testa) offrent une barrière efficace contre le passage de l'eau, complétant ainsi l'inhibition métabolique de l'embryon. Ce point rejoint les propos de Janerette (1977b) qui suggère que les téguments ainsi que les cotylédons sont impliqués dans la dormance des graines. Cette barrière au passage de l'eau nécessite une longue stratification (Webb & Dumbroff, 1969).

Nos essais préliminaires n'ont pas donné de bons résultats. La première méthode évaluée comprenait l'enlèvement du péricarpe des graines, étape fastidieuse. De plus, ce protocole comprenait la stérilisation des graines au peroxyde d'hydrogène, opération délicate dont la durée constitue un facteur critique. Les graines ainsi préparées nous semblaient plus sensibles aux contaminations et à la putréfaction. Des problèmes similaires ont été rapportés par Webb et Dumbroff (1969) avec des graines nues (sans péricarpe, ni tégument). Cette façon de procéder fut donc abandonnée et remplacée. Signalons qu'une augmentation de la concentration des cytokinines serait en mesure de contrecarrer l'effet d'inhibiteurs endogènes (Van Staden *et al.*, 1972), donc potentiellement capable de réduire la durée de la période de stratification. Nous n'avons cependant pas exploré cette avenue.

Le fongicide utilisé s'est avéré très efficace puisque moins de 15% de graines présentait des signes de contamination. Ce résultat contraste avec les observations rapportées par Carl & Yawney (1966), qui n'ont pas utilisé de fongicide, et ce que nous avons obtenu lors de nos essais préliminaires de stratification.

Notre taux de germination est légèrement inférieur à ceux rapportés par d'autres auteurs. Ainsi, Chandler (1938) a obtenu un taux de germination de 98% sur du sable. Ce pourcentage ne tient pas compte des graines vides qui représentent entre 20 et 74% des lots de graines utilisés par cet auteur (Chandler, 1938). Un pourcentage de germination similaire a été obtenu par Janerette (1978) alors que Yawney & Carl (1974) rapportent un taux supérieur à 90%. La fraîcheur des graines ainsi que leur provenance peuvent expliquer les différences observées.

Nous avons donc réussi à faire germer en grand nombre nos graines. Cependant, c'est essentiellement après leur transfert en pot que nous avons connu le plus de difficultés. En effet, plusieurs plantules ne dépassaient pas le stade cotylédonaire et succombaient en quelques heures ou quelques jours après leur transfert dans la chambre de croissance. De plus, en dépit de l'intensité lumineuse modérée dans la chambre de croissance et du recours à une solution d'arrosage, de nombreux semis présentaient des nécroses foliaires. Ces spécimens n'étaient pas conservés et seul les semis visiblement en bonne condition servaient pour nos expériences.

D) Conclusion

Il s'avère donc possible de faire germer en grand nombre et sans trop de difficultés les graines de l'érable à sucre. Notre faible taux de survie lors du transfert en pot trouve possiblement sa source dans l'absence de champignons mycorhiziens spécifiques à l'érable à sucre dans le mélange de terre utilisé. Ce point mérite d'être examiné par ceux qui désirent procéder à la germination des graines de cette espèce.

ANNEXE III

RELATION ENTRE LE SIGNAL PHOTOACOUSTIQUE ET CERTAINS PARAMÈTRES PHYSIOLOGIQUES

Nous savons que la photosynthèse permet aux plantes de harnacher l'énergie contenue dans les radiations solaires et de l'utiliser à des fins de synthèse, de croissance et développement. Les diverses techniques utilisées en écophysiologie (spectroscopie de fluorescence, analyseur de CO₂ à infra-rouge, mesure de l'activité enzymatique,...) nous ont permis de constater qu'il existe des relations entre l'activité photosynthétique et certains paramètres physiologiques comme le rendement d'une plante. Cependant, ces relations ne sont pas toujours linéaires et quelquefois fort complexes.

A) Objectifs

Puisque la SPA permet d'estimer la photosynthèse via l'emmagasinement d'énergie photosynthétique et la production d'oxygène, nous avons cherché à déterminer si des relations existaient entre les divers paramètres PA (composante thermique maximale, composante d'oxygène, normalisée ou non, et emmagasinement d'énergie photosynthétique) et certains paramètres physiologiques (masse fraîche, masse sèche, teneur en eau). Nous¹ avons donc entrepris une série d'expériences avec diverses espèces dont d'érable à sucre où, en plus des

1 Les expériences décrites dans cette annexe ont été effectuées en collaboration avec le Dr Marc Charland.

mesures PA, un dosage des pigments, des mesures de la masse fraîche et de la masse sèche étaient effectuées. La comparaison entre les paramètres PA et physiologiques devraient nous permettre de vérifier l'existence de relations entre ceux-ci.

Un autre objectif de cette étude consistait à vérifier la possibilité de déterminer le contenu en chlorophylles totales des échantillons analysés. La plupart des techniques de quantification des pigments reposent sur l'extraction au moyen de divers solvants comme l'acétone, l'éthanol, le méthanol, l'éther di-éthylique et le N,N-diméthylformamide, et leur analyse au moyen d'une technique spectroscopique ou chromatographique (MacKinney, 1940, 1941; Zscheile, 1941; Arnon, 1949; Vernon, 1960; White *et al.*, 1960; Bruinsma, 1961, 1963; Ogawa & Shibata, 1965; Wintermans & De Mots, 1965; Wintermans, 1969; Hiscox & Israelstam, 1979; Moran & Porath, 1980; Moran, 1982; Lichtenthaler & Wellburn, 1983; Ronen & Galun, 1984; Inskeep & Bloom, 1985; Jespersen & Christoffensen, 1987; Lichtenthaler, 1987; Spencer & Ksander, 1987; Porra *et al.*, 1989). Or, ces méthodes d'extraction comportent le désavantage d'être lentes et le plus souvent destructives, ce qui limitent le suivi des variations dans le temps de tout autre paramètre, y compris la teneur en pigments. De plus, entre le prélèvement de l'échantillon et la mesure spectrophotométrique, l'opérateur risque de perdre une certaine quantité de pigment, ce qui contribue vraisemblablement à la variabilité des résultats (Yadava, 1986).

Même si certains de ces solvants ne requièrent pas le broyage de l'échantillon, comme c'est le cas avec le N,N-diméthylformamide, il demeure intéressant de mettre au point une méthode non-destructive de dosage des pigments. L'établissement d'une ou plusieurs corrélations entre les paramètres PA et la quantité de pigment ou d'autres paramètres physiologiques, ferait de cette technique la plus polyvalente actuellement disponible pour l'étude de la photosynthèse.

B) Matériel et méthodes

Une première série de mesures a été effectuée avec des spécimens prélevés sur des plantes situées sur le campus de l'université (érable de Norvège et peuplier à grandes dents) ou cultivés dans notre chambre de croissance (tabac). Suite aux résultats obtenus lors de ces premières expériences, nous avons décidé de nous concentrer sur le cas de l'érable à sucre pour la seconde série de mesures.

1) Matériel végétal

Au début de cette étude, nous avons présumé que s'il existe une relation entre certains paramètres PA et physiologiques, celle-ci devrait se manifester de façon universelle chez les diverses espèces végétales. Nous avons donc effectué des mesures (août et septembre 1989) sur trois espèces différentes.

Des feuilles ont été prélevées aléatoirement, à moins de 2 m du sol, sur deux érables de Norvège (*Acer platanoides* L.) d'une dizaine de mètres de hauteur. Les feuilles de peuplier à grandes dents (*Populus grandidentata* Michx.) proviennent de 3 arbres différents échantillonnés à moins de 2 m du sol. Les prélèvements ont été effectués entre le 28 août et le 7 septembre. Des plants de tabac (*Nicotiana tabacum* L. cv. Grand Rouge), cultivés dans des conditions similaires à celles maintenues pour le pois (voir chapitre V), ont également été utilisés. Les disques proviennent des feuilles 5 à 11, à partir de l'apex, de 5 plants de tabac en fructification. Deux sauvageons d'érable à sucre ont été utilisés (voir chapitre V) pour les mesures effectuées le 4 et le 5 juin. Des 25 disques utilisés, 12 provenaient d'une même feuille, les autres de feuilles différentes, mais de la même plante.

2) Mesures en spectroscopie photoacoustique

Pour la première série de mesures, nous nous sommes limités à la composante thermique maximale. Suite aux recommandations du Dr Michel Havaux, en visite dans nos laboratoires, nous avons utilisé la valeur de la composante thermique maximale extrapolée à une fréquence de 0 Hz. Cette approche repose sur l'observation que l'amplitude de cette composante serait dépendante de la morphologie de la plante, dépendance qui disparaît avec la valeur extrapolée. Des mesures en présence de la lumière saturante ont donc été effectuées à 100, 70, 40, 25 et 12 Hz fournissant ainsi 5 points pour calculer la valeur extrapolée. Pour chacune des espèces, nous avons répété les mesures sur 30 disques.

Les conditions expérimentales lors des mesures PA sont: $I_{\text{mod}} = 10 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$; $\lambda_{\text{mod}} = 680 \text{ nm}$; $I_{\text{sat}} = 360 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$. Les espèces utilisées et leur provenance expliquent les différences entre ces valeurs et celles présentées au chapitre V. Pour la seconde série, les conditions sont: $I_{\text{mod}} = 15 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$; $\lambda_{\text{mod}} = 630 \text{ nm}$; $I_{\text{sat}} = 400 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$. Dans ce cas, nous avons mesuré l'ensemble des paramètres PA comme pour les mesures sur l'effet des polluants gazeux.

Afin de savoir si nous pouvons approximer la quantité de pigments présents dans les disques de feuilles de peuplier à grandes dents, nous avons mesuré T^m aux mêmes longueurs d'onde que celles utilisées lors du dosage spectrophotométrique des pigments (470.0, 646.8 et 663.2 nm). Nous avons vu au chapitre IV que l'intensité lumineuse du faisceau d'analyse diffère en fonction de la longueur d'onde. Les valeurs d' A_{Tm} ont donc été normalisées par la valeur obtenue avec un corps noir à la même longueur d'onde. En restituant la presque totalité de la lumière absorbée, le corps noir constitue une bonne référence pour évaluer l'intensité lumineuse aux diverses longueurs d'onde.

3) Évaluation des paramètres physiologiques

Par paramètres physiologiques, nous entendons la teneur en pigments (chlorophylles *a* et *b*, caroténoides), les masses fraîches et sèches de même que le pourcentage d'eau des disques de feuilles. La valeur de ces paramètres dépend des conditions environnementales et influence l'activité photosynthétique. Pour sa part, le signal PA dépend des propriétés d'absorption lumineuse et de diffusion thermique de la feuille. Nous espérons donc trouver une relation entre le signal PA et le contenu en pigments, qui jouent un rôle déterminant dans l'absorption lumineuse, et/ou la teneur en eau, la masse fraîche ou sèche, qui influencent les caractéristiques de diffusion thermique.

Nous avons déterminé la quantité de pigments présents dans les disques de feuilles utilisés pour les mesures PA. L'instabilité des pigments chlorophylliens (Zscheile & Comar, 1941) impose le recours à une méthode rapide d'extraction. Cependant, dans plusieurs cas, le dosage ne pouvait être effectué immédiatement après les mesures PA. Dans ces cas, les disques de feuille utilisés pour ces mesures étaient conservés au congélateur ($-15 \pm 4^{\circ}\text{C}$) dans environ 5 ml d'acétone 80% (B & J ChromaPure, Baxter Healthcare Corp., Burdick & Jackson Div., Muskegon, MI). L'extraction et le dosage se faisaient moins de 4 h après la mesure PA.

Le choix de l'acétone 80% comme solvant d'extraction au lieu de l'acétone de concentration supérieure est justifié par le fait que les caractéristiques d'absorption des chlorophylles et des phéophytines sont moins affectées par les variations de la teneur en eau. En effet, le broyage des feuilles introduit généralement une certaine quantité d'eau qui vient diluer l'acétone. Dans notre cas cependant, la petitesse des échantillons permet de considérer comme négligeable la dilution du solvant d'extraction qui résulte du broyage (variation inférieure à 0.2 % pour l'érable à sucre).

Le solvant de même que la verrerie utilisés lors de l'extraction et du dosage sont refroidis à la température de la glace fondante (entre 0 et 5°C). L'extraction est effectuée dans une chambre froide (4°C) en présence de lumière verte tamisée. Les disques sont broyés au moyen d'un mortier et d'un pilon d'agate. Ce matériau est préférable à la porcelaine qui retient trop fortement les pigments à ses parois. Le broyage est facilité par l'utilisation d'une petite quantité de sable de quartz lavé (Fisher Scientific Co., Montréal, QC).

La purée résultant du broyage ainsi que l'acétone utilisée pour rincer le mortier et le pilon sont recueillies dans un tube à centrifugation. Fermés hermétiquement, ces tubes peuvent être maintenus au froid et à l'obscurité pour une période n'excédant pas 1 h sans effet délétère (Holden, 1976). Les tubes sont ensuite centrifugés pendant 10 min dans une centrifugeuse clinique (modèle Clinical, Damon, International Equipments Co. Div., Needham Heights, MA) réglée à la position cinq. Le surnageant est recueilli dans une fiole de 10 mL et le volume complété à la ligne de jauge avec de l'acétone 80% froide.

Des cuvettes de quartz sont utilisées en conjonction avec un spectrophotomètre (modèle 553 Fast Scan UV/VIS, Perkin-Elmer, Coleman Instrument Div., Oak Brook, IL). Le dosage est alors effectué et les concentrations de pigments déterminées en utilisant les coefficients proposés par Lichtenthaler (1987). Une pratique courante en écologie et en physiologie végétale consiste à exprimer le contenu pigmentaire d'une feuille ou d'un échantillon par unité de surface ou par unité de masse fraîche. Dans la mesure du possible, nous avons adopté une telle présentation en exprimant le contenu pigmentaire par disque de feuille. Rappelons que la surface des disques est constante et d'une valeur de 2.54 cm².

Puisque les disques de feuilles ayant servi à la détermination des paramètres PA sont détruits lors du dosage des pigments, nous avons procédé à l'échantillonnage suivant. Des

disques, provenant d'une position symétrique par rapport à la nervure centrale, sont prélevés sur les mêmes feuilles que celles utilisées pour les mesures PA. Cette façon de procéder permet de prélever des disques morphologiquement et physiologiquement très similaires à ceux analysés en SPA.

Ces disques sont déposés dans des coupelles d'aluminium préalablement pesées et convenablement identifiées pour la détermination de la masse fraîche. La célérité est de rigueur et, de façon générale, l'opération prend moins d'une minute, minimisant ainsi les pertes de poids par évapotranspiration. Les coupelles sont par la suite placées dans une étuve, réglée à 90°C, pour une période de 24 à 48 h, jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Cette période suffit largement pour assurer la déshydratation complète des disques de feuilles. Après déshydratation, les coupelles et leur contenu sont pesés à nouveau et les masses sèches ainsi que les teneurs en eau, exprimés en pourcentage de la masse fraîche, sont alors calculées.

C) Résultats

Les valeurs moyennes des paramètres, déterminés pour la première série de mesures, sont présentées au tableau 28. Nos tentatives pour trouver une corrélation entre ces paramètres et la composante thermique maximale extrapolée à 0 Hz se sont avérées infructueuses. Ainsi, pour les trois espèces étudiées, le coefficient de corrélation (r^2) le plus élevé que nous avons obtenu était de 0.22 témoignant d'une grande dispersion des résultats en dépit du nombre élevé de mesures. Devant l'absence de corrélation nous avons jugé inutile de présenter les valeurs des analyses statistiques. Nous avons cependant obtenu d'excellents coefficients de corrélation pour les droites de régression utilisées pour l'évaluation des valeurs extrapolées ($r^2 > 0.97$). Cette relation de linéarité est prévue par la théorie photoacoustique.

Tableau 28

Valeurs moyennes des paramètres physiologiques mesurés chez trois espèces

	Érable de Nor- vège	Peuplier à gran- des dents	Tabac
Chlorophylle <i>a</i> (µg)	63 ± 14	80 ± 7	60 ± 10
Chlorophylle <i>b</i> (µg)	28 ± 7	28 ± 3	26 ± 6
Caroténoïdes (µg)	17 ± 3	20 ± 2	13 ± 2
Rapport chl <i>a</i> / chl <i>b</i>	2.3 ± 0.2	2.9 ± 0.2	2.3 ± 0.3
poids frais (g)	27.9 ± 4.5	35.9 ± 3.1	40.1 ± 7.1
poids sec (g)	13.2 ± 2.3	17.2 ± 2.1	4.5 ± 1.5
pourcentage d'eau	52.7 ± 2.4	52.0 ± 3.7	89.0 ± 1.5

Moyenne de 30 spécimens ± écart-types.

Nous avons effectué de nouvelles mesures en utilisant un sauvageon d'érable à sucre. Dans ce cas, le seul paramètre physiologique évalué fut le contenu pigmentaire. En SPA, nous avons mesuré la composante thermique maximale, l'emmagasinage d'énergie ainsi que la composante d'oxygène (tableau 29). Dans ce cas également, nos tentatives pour trouver une corrélation entre les paramètres PA (A_{Tm} , EEP, A_{O_2} et A_{O_2}/A_{Tm}) et le contenu pigmentaire (chlorophylle *a*, *b*, *a* et *b*, caroténoïdes, pigments totaux) des disques n'ont pas porté fruits ($r^2 < 0.18$). Finalement, les mesures de T^m à différentes longueurs d'onde n'ont pas permis d'établir de corrélation entre ce paramètre et la quantité de pigments déterminée avec le dosage à l'acétone.

Pour l'ensemble des corrélations que nous avons essayé d'établir, la dispersion des points expérimentaux ne nous permet pas d'établir de relation mathématique (linéaire, logarithmique, exponentielle, factorielle,...). Un exemple de dispersion des résultats est présenté à la figure 26 où l'on vérifiait la relation reliant T^m au poids frais ($r^2 = 0.22$).

Tableau 29

Paramètres photoacoustiques et contenu pigmentaire des disques de feuilles d'un sauvageon d'érable à sucre

Paramètres photoacoustiques		Contenu pigmentaire ¹	
A_{Tm} (mV)	6.7 ± 0.9	Chlorophylle <i>a</i> (µg)	64 ± 4
EEP (%)	21.5 ± 1.6	Chlorophylle <i>b</i> (µg)	26 ± 3
A_{O_2} (mV)	1.5 ± 0.7	Caroténoïdes (µg)	15 ± 2
A_{O_2}/A_{Tm}	0.22 ± 0.09	Rapport chl <i>a</i> / chl <i>b</i>	2.5 ± 0.2

Moyenne de 25 mesures \pm écart-type.

¹ Le contenu pigmentaire est exprimé par disque de feuille.

D) Discussion

Nous pouvons retrouver dans la littérature plusieurs exemples de corrélation entre des paramètres physiologiques et l'activité photosynthétique. Par exemple, McClendon (1962), utilisant des données publiées par un autre auteur, a démontré que l'activité photosynthétique maximum variait linéairement en fonction de la densité de la feuille ("density thickness") exprimée en terme de poids frais par unité de surface. Holmgren (1968) a rapporté, pour des écotypes de *Solidago virgaurea* L., que la résistance au passage du CO₂ dans la phase liquide du mésophylle diminuait en fonction d'une augmentation du poids sec par unité de surface foliaire. Une augmentation de cette résistance se traduit normalement par une réduction de l'activité photosynthétique. Enfin, Dornhoff & Shibles (1970) ont obtenu une corrélation positive entre le poids frais (et poids sec) et la photosynthèse chez *Glycine max* (L.) Merr.

Puisque la SPA permet d'évaluer l'activité photosynthétique, nous sommes surpris par l'absence de corrélation obtenue dans cette étude. Nous avons limité notre recherche à la

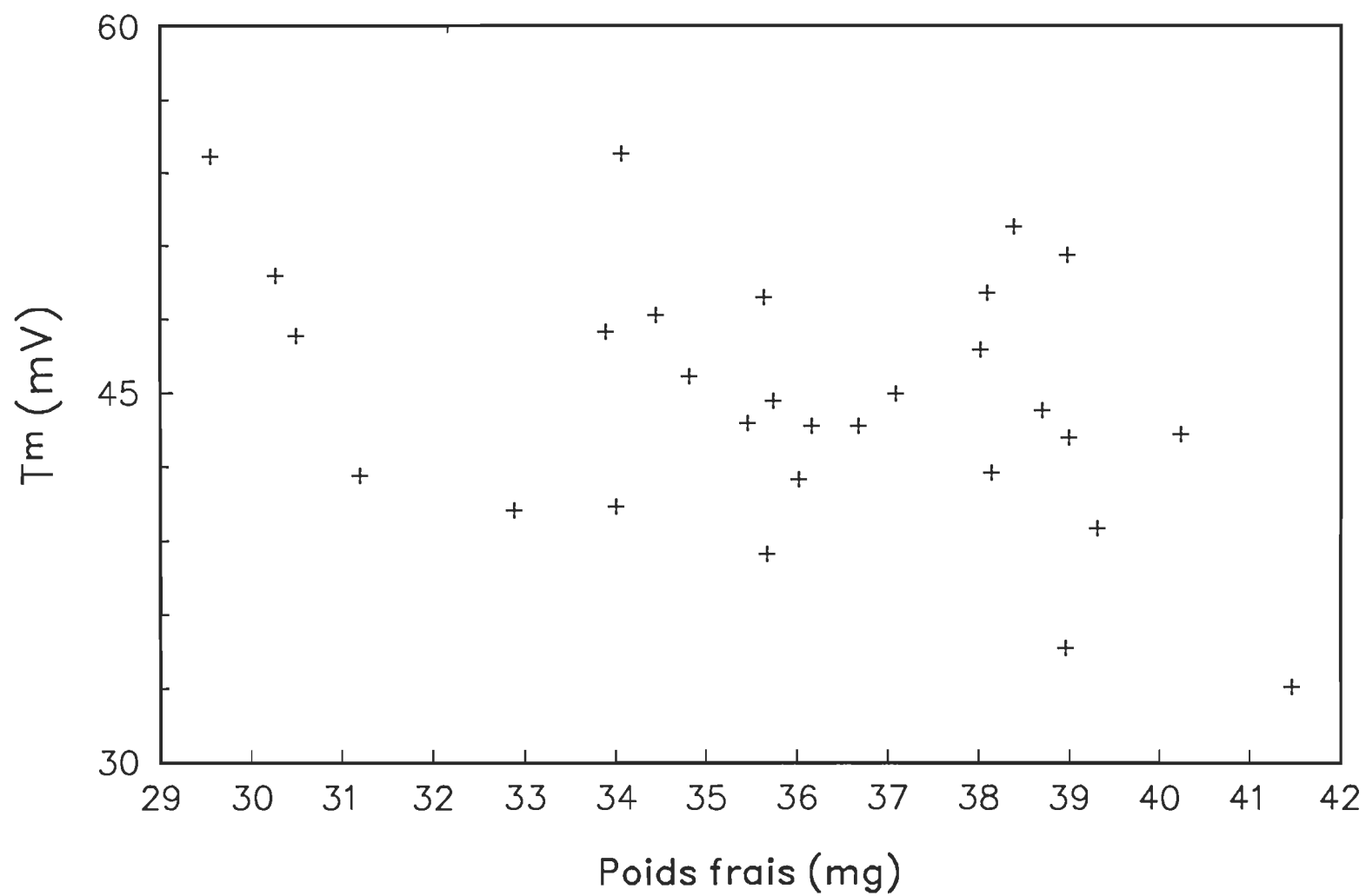


Figure 26. Relation entre T^m et le poids frais de différents disques de feuilles de peupliers à grandes dents

détermination d'une relation linéaire entre les paramètres photoacoustiques et physiologiques. Cependant, l'examen des résultats, sous forme de diagrammes de dispersions, témoigne de l'absence de relation entre ces paramètres (dispersion aléatoire des points, figure 26).

Nous avons vu que la théorie photoacoustique fait intervenir les propriétés thermiques de l'échantillon. Dans le cas des feuilles, nous pouvons supposer que l'eau, présente en abondance dans les tissus (tableau 28), devrait avoir une influence prépondérante sur leurs propriétés thermiques. Cependant, nous avons observé aucune corrélation significative entre les divers paramètres PA et la teneur en eau des disques de feuilles. Si notre hypothèse d'une contribution prépondérante de l'eau dans la détermination des propriétés thermiques de la feuille est fausse, ce rôle appartient alors aux autres composantes de la feuille. Collectivement, ces autres composantes sont déterminées par la masse sèche. Cependant, aucune corrélation n'a pu être établie entre les divers paramètres PA et la masse sèche des disques de feuille. Il semble donc que l'amplitude du signal PA, et plus particulièrement de la composante thermique maximale, sont indifférentes à la teneur en eau et à la masse sèche du spécimen.

L'idée de caractériser les pigments de la feuille *in situ* au moyen de la SPA a déjà été étudiée par Ortner & Rosencwaig (1977). Cependant, ces auteurs ont appliqué cette technique d'une façon différente de la nôtre. Ils ont exploité la possibilité de prendre des spectres *in vivo*, au moyen de la SPA, pour identifier les pigments présents dans diverses espèces de phytoplanctons marins.

Bien que non destructrice, l'analyse des pigments foliaires par spectrophotométrie n'offre qu'une faible résolution comparativement à l'analyse d'extraits pigmentaires (Ortner & Rosencwaig, 1977). De plus, certains pigments semblent plus difficiles que d'autres à détecter ou nécessitent un dispositif d'analyse à basse température (Meeks, 1974).

La chromatographie de cellules ou de feuilles intactes n'est pas possible et la spectroscopie de fluorescence n'informe que sur les pigments dont nous détectons la fluorescence, notamment la chlorophylle *a* (Ortner & Rosencwaig, 1977). Les limitations des techniques conventionnelles de quantification des pigments, associées à la possibilité d'établir des relations simples entre les paramètres PA et physiologiques, justifiaient notre démarche.

Les faibles coefficients de corrélation obtenus entre les divers paramètres PA et les contenus pigmentaires des échantillons analysés peuvent surprendre à prime abord. En effet, Yadava (1986) a obtenu, pour des feuilles de pêcher (*Prunus persica* (L.) Batsch), un coefficient de corrélation significatif ($r^2 = 0.71$) entre la teneur en chlorophylles totales par unité de surface et la transmittance mesurée au moyen d'un spectrophotomètre portatif (SPAD-501, Minolta Corp., Japon). Marquard & Tripton (1987) présentent des résultats encore meilleurs, avec des coefficients de corrélation variant entre 0.83 et 0.97 pour 12 espèces différentes. De façon similaire, Stamps & Boone (1988) rapportent des r^2 variant entre 0.82 et 0.90 pour trois espèces de plantes ornementales.

Il semble donc que la transmittance constitue un bon indicateur de la teneur en chlorophylles totales chez plusieurs espèces. Alors comment expliquer l'absence de corrélation entre les divers paramètres PA et la teneur en pigments de nos échantillons? Pour tenter de répondre à cette question, il convient de mentionner que les mesures PA ne dépendent pas de la quantité de lumière transmise par l'échantillon mais plutôt de la quantité absorbée (voir chapitre IV). Cette première différence entre les deux techniques (spectrophotomètre portatif et SPA) permet probablement d'expliquer une partie des différences observées.

Alors que les résultats obtenus avec le spectrophotomètre portatif ne dépendent que des propriétés optiques de la feuille, le signal PA, tant qu'à lui, dépend à la fois de ces dernières

et des propriétés thermiques (et possiblement mécanique) de l'échantillon. Sur ce dernier point, rappelons que la teneur en eau, généralement élevée chez les tissus végétaux détermine en majeure partie ses propriétés thermiques. Il faut donc s'attendre à ce que la variation, observée dans la teneur en eau des disques de feuille, vienne s'ajouter aux autres sources de variation.

Bien que non spécifiés par les auteurs, les coefficients de corrélation entre la teneur en chlorophylles totales par unité de masse fraîche et les mesures prises au spectrophotomètre portatif ne seraient pas aussi bons que lorsque ce dernier paramètre est corrélé à la teneur en pigments par unité de surface (Marquard & Tripton, 1987). Ce point s'explique probablement en considérant la variabilité additionnelle introduite lorsque l'on tient compte de la teneur en eau. Ce paramètre présente en effet une variabilité non-négligeable pour l'érable de Norvège et le peuplier à grandes dents comme en témoigne nos résultats au tableau 28.

E) Conclusion

Le signal photoacoustique ne semble pas corrélé à la teneur en eau et en matière sèche des disques de feuille. Ces deux paramètres présentent cependant une importance cruciale pour la physiologie de la feuille. Nous devons donc conclure que la spectroscopie photoacoustique n'est pas en mesure de rendre compte des variations de ces paramètres, ce qui en diminue l'intérêt pour une application en écophysiologie. Ce point prend encore plus de sens, sachant que le signal PA semble indifférent à la teneur en pigments de la feuille. D'autre appareil, comme le spectromètre portatif (SPAD), semble mieux adapté lorsque la détermination non-destructive du contenu pigmentaire d'un spécimen est requise.

Nous avons proposé plusieurs causes pour expliquer la variabilité des résultats obtenus lors des traitements avec les polluants gazeux. Nous venons de constater l'indifférence du signal PA vis-à-vis la teneur en eau, de la masse sèche et du contenu en pigments. Une question qui nous vient alors à l'esprit est: "Le modèle théorique proposé par Rosencwaig et Gersho est-il vraiment en mesure de rendre compte de la nature hétérogène de la feuille?". Cette question mériterait qu'on s'y attarde en adoptant une approche théorique avec vérifications expérimentales. La porte est donc ouverte aux aventureux.